Aus dem Institut für Hygiene und experimentelle Therapie, Abteilung für Hygiene, Marburg a. d. Lahn. Vorstand: Prof. Dr. Bonhoff.

Über experimentelle Pseudotuberkulose durch eine Varietät des Bacillus Paratyphi B.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg

Vorgelegt von

Eugen Kirch,
approb. Arzt aus Siegen i. Westf.

Marburg 1913.

Druck von R. Oldenbourg in München.

Aus dem Institut für Hygiene und experimentelle Therapie, Abteilung für Hygiene, Marburg a. d. Lahn. Vorstand: Prof. Dr. Bonhoff.

Über experimentelle Pseudotuberkulose durch eine Varietät des Bacillus Paratyphi B.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg

Vorgelegt von

Eugen Kirch,

approb. Arzt aus Siegen i. Westf.

Marburg 1913.

Druck von R. Oldenbourg in München.

Von der Medizinischen Fakultät Marburg als Dissertation angenommen am 24. Juli 1912.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.
Referent: Prof. Dr. Bonhoff.

Zugleich im „Archiv für Hygiene“ 78. Bd., 7. u. 8. Heft, erschienen.

Meinen lieben Eltern

in dankbarer Verehrung.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556031_0033

Inhalts-Verzeichnis: I. Einleitung. Literatur über Pseudotuberkulose. — II. Experimenteller Teil. 1. Studium der Eigenschaften des Pseudotuberkulose-Bazillus. 2. Infektionsversuche an Meerschweinchen: a) Durch subkutane und intraperitoneale Injektion; b) Durch Verfütterung. 3. Infektionsversuche an anderen Tierspezies (weißen Mäusen, Tauben, Kaninchen). 4. Versuche einer Toxingewinnung. 5. Versuche einer Serumgewinnung. 6. Histologische Studien. — III. Schluß. Zusammenfassung.

I. Einleitung.

Schon kurz nachdem Robert Koch durch seine Entdeckung des Tuberkelbazillus im Jahre 1881 die Ätiologie der Tuberkulose klargestellt hatte, erwies sich aus vereinzelten Beobachtungen pathologischer Prozesse, daß mitunter die anatomischen Veränderungen der Organe makroskopisch und bis zu einem gewissen Grade auch mikroskopisch mit den für die Tuberkulose charakteristischen Anomalien scheinbar völlig übereinstimmten, ohne daß sich in ihnen der Koch sche Bazillus nachweisen ließ. Die ersten derartigen Beobachtungen machten Malassez und Vignal[1]), die 1883 nach Verimpfung eines käsigen Unterhautknotens von einem unter der klinischen Diagnose Meningitis ver-

storbenen Kinde bei Meerschweinchen in Milz und Leber eine rasch zum Tode führende Eruption tuberkelähnlicher Knötchen auftreten sahen. Statt der vermuteten Tuberkelbazillen fanden sie Zoogloeamassen von Mikrokokken und bezeichneten dieses Krankheitsbild als „Tuberculose zoogléique" im Gegensatz zur „Tuberculose bacillaire". Die Frage nach dem Erreger dieser Tuberkulose zoogléique ist später in der Literatur vielfach lebhaft diskutiert worden, ohne daß sie sich völlig hat klären lassen; Tatsache ist jedenfalls, daß Malassez und Vignal zum ersten Male tuberkelähnliche Erscheinungen beobachteten, deren Erreger wohl kaum der Kochsche Bazillus gewesen ist.

Kurz darauf berichtete auch Eberth[2]) in Halle über „eine äußerlich mit der echten Tuberkulose vollkommen übereinstimmende, bezüglich der sie erzeugenden Organismen aber davon verschiedene Affektion des Meerschweinchens, welche in einer durch Mikrokokken erzeugten Nekrose, Eiterung und interstitiellen Wucherung bestand", und prägte für diese Erkrankung den Namen „Pseudotuberkulose". Spätere Autoren schlugen noch andere Bezeichnungen vor. So sprach Manfredi[3]) bei einem von ihm selbst beobachteten Falle von „progressiver Granulombildung", während Baumgarten[4]) für diesen Krankheitsprozeß die Bezeichnungen „Granulie Zoogléique" oder „Granulosis micrococcica" oder „infektiöse miliare Leukozytombildung" in Vorschlag brachte. Von allen diesen Benennungen hat sich nur die von Eberth eingeführte „Pseudotuberkulose" eingebürgert. Sie ist vor allen anderen um so mehr berechtigt, als sie den Begriff weiter umfaßt; denn außer Bakterien können, wie zahlreiche Beobachtungen im Laufe der Zeit erwiesen, auch Cladothrix- und Streptothrixarten, Blastomyzeten, Aspergillusarten, Protozoen, höher organisierte Tiere bzw. deren Eier, ja selbst kleine Emboli und Fremdkörper gelegentlich das Bild einer Tuberkulose vortäuschen.

Inzwischen hatten Malassez und Vignal[5]) einen zweiten Fall, ähnlich ihrem ersten, bei Meerschweinchen beobachtet, wobei das Ausgangsmaterial der Wand eines anscheinend tuberkulösen Knochenabszesses am Fuß eines zweijährigen Kindes

entstammte. Fast gleichzeitig mit ihnen hatte auch Eberth[6]) Gelegenheit, ein zweites Mal, und zwar bei einem Kaninchen, dieses Krankheitsbild zu studieren, das hier mit starker Knötchenbildung in Milz, Leber, Mesenterium, Serosa des Colon transversum und descendens, in geringerer Zahl auch in Nieren, Knochenmark und Zwerchfellserosa einherging.

In der Literatur der folgenden Jahre mehrten sich die Fälle von Pseudotuberkulose beträchtlich. Charrin und Roger, Nocard und Masselin, sowie Dor, Zagari, Pfeiffer, Parietti (genauere Literatur hierüber siehe Kolle und Wassermann 1903, Bd. 3. „Pseudotuberkulose" von Grabert) berichteten sämtlich über Befunde besonderer Bazillen in tuberkelähnlichen Knötchen der Leber und Milz von Meerschweinchen und Kaninchen, Kutscher[7]) über die gleichen Erscheinungen in der Lunge einer spontan eingegangenen Maus.

Als nun 1891 Preisz[8])[9]) zusammen mit Guinard in einer Schafsniere haselnußgroße, teils verkalkte, teils käsige Knoten fand, aus denen sich ein sehr feines kleines Stäbchen mit abgerundeten Ecken gewinnen ließ, unternahm er es, unter Benutzung der bisher nur gelegentlich beobachteten Einzelfälle, zuerst systematisch exakte vergleichende Untersuchungen über die vielen bis dahin als Erreger solcher Knoten angesehenen Bakterien anzustellen. Auf Grund seiner Forschungen stellte er drei Gruppen der bazillären Pseudotuberkulose auf: er unterschied unter den Erregern nämlich den Bacillus Pseudotuberkulosis murium Kutscher, den Bacillus Pseudotuberkulosis ovis Preisz und den am häufigsten vorkommenden Bacillus Pseudotuberkulosis rodentium A. Pfeiffer. Dieses letzte Bakterium hatte A. Pfeiffer[10]) bei einem Meerschweinchen gewonnen, das nach Verimpfung von Lungen- und Lymphdrüsenteilen eines rotzverdächtigen Pferdes an Pseudotuberkulose erkrankt war. Es handelt sich um einen in der Außenwelt stark verbreiteten Saprophyten von charakteristischem morphologischen und kulturellen Verhalten, der nur zufällig pathogene Eigenschaften erlangt und in den meisten Fällen als Erreger der namentlich bei Meerschweinchen nicht gerade seltenen Nagetiererkrankung anzusehen ist.

Im weiteren Verlauf der Forschung sind aber bei Nagern und speziell bei Meerschweinchen eine ganze Reihe von Pseudotuberkulosen zur Beobachtung gekommen, deren Ursache nicht auf den genannten Pfeiffer schen Bacillus Pseudotuberkulosis rodentium, sondern auf andere Mikroorganismen zurückgeht. Ganz besonderes Interesse haben die Paratyphus B.- und paratyphusähnlichen Bakterien als hierhin gehörige Krankheitserreger beansprucht. Van Ermengem[11]) war es, der zuerst auf diese Tatsache hinwies. Im „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen" von Kolle und Wassermann 1903, Bd. 2 betont er ausdrücklich „die Ähnlichkeit des Moorseeler Bazillus (bei einer Epidemie zu Moorseele in Flandern gewonnen, mit dem Bacillus enteritidis Gärtner identisch) mit solchen Bakterienarten, deren Pathogenität ebenso wie ihre Spezifizität nicht bezweifelt wird, so mit dem Bazillus der Pseudotuberkulose".

Auch Durham[12]) machte etwa gleichzeitig auf die engen Beziehungen aufmerksam, die zwischen den verschiedenen Fleischvergiftern und den Erregern gewisser Tierkrankheiten, unter anderem auch der Pseudotuberkulose, bestehen.

Diese Behauptungen konnten durch Klein[13]) [14]) in London experimentell bestätigt werden. Zum Zwecke einer Untersuchung Londoner Marktmilch injizierte er nämlich den Milchabsatz mehreren Meerschweinchen und erhielt dadurch eine chronische Erkrankung der Milz, die sich bei der Obduktion in einer Vergrößerung dieses Organs und dem Auftreten zahlreicher stecknadelkopfgroßer bis erbsengroßer Knötchen mit eitrigem Zentrum äußerte, während alle übrigen Organe anscheinend normal blieben; aus den Knötchen gewann er ohne weiteres Reinkulturen, die sich als Bacillus enteritidis Gärtner erwiesen und durch subkutane und intraperitoneale Injektion, ja sogar durch stomachalen Infektionsmodus, bei anderen Tieren dasselbe Krankheitsbild erzeugten.

Da so durch Infektion per os die Pseudotuberkulose experimentell hervorgerufen wurde, so lag die Annahme nahe, daß auch eine Spontaninfektion mit infizierter Nahrung möglich sei. Tatsächlich konnte dann Löffler[15]) als erster derartige Fälle beobachten, die auf einer spontanen Stallinfektion durch den Ba-

cillus enteritidis Gärtner beruhten und mit einer typischen, vorwiegend in der Leber lokalisierten Knötchenbildung einhergingen. Eine weitere Stütze fand obige Annahme, als 1906 im Ehrlichschen Institut zu Frankfurt a. M. Neißer[16]) und Eckersdorff[17]) eine verbreitete Meerschweinchenseuche mit pseudotuberkulösen Erscheinungen feststellten, die ebenfalls auf eine Spontaninfektion, und zwar mit Paratyphus B-Bazillen zurückzuführen war. Da die epidemische Verbreitung der Krankheit eine Massenschlachtung von ca. 100 Tieren nötig machte, wurden bei der Sektion die tuberkuloseähnlichen Erscheinungen bei ungefähr einem Drittel der Tiere konstatiert und näher untersucht. Es fanden sich die typischen gelbweißen Herde, die in der Größe zwischen einem Stecknadelkopf und einer großen Erbse schwankten, fast stets in Milz, Leber, Mesenterialdrüsen und in vereinzelten Fällen im Pankreas. Bisweilen fanden Neißer und Eckersdorff überdies noch Verklebungen oder in älteren Stadien Verwachsungen mit Nachbarorganen, mitunter auch noch eine Affektion des Darmes, meist in Form eines Katarrhs, mit diffuser Schwellung der Schleimhaut.

Ähnliche Beobachtungen wurden kurz darauf auch in den Versuchsställen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes zu Berlin gemacht und von Dieterlen[18]) beschrieben. Bei der Obduktion zweier Meerschweinchen fanden sich hier gelbgraue, stecknadelkopfgroße, pseudotuberkulöse Herde in der Milz, die offenbar auf eine Spontaninfektion mit einem Bazillus zurückzuführen waren, der sich leicht aus der Milz erhalten und bei morphologischer und kultureller Untersuchung als Bacillus paratyphi B. identifizieren ließ. Sowohl durch subkutane Injektion als auch durch Fütterung mit diesem Bazillus konnte Dieterlen bei weiteren Tieren die gleichen tuberkelähnlichen Herde in der Milz erzeugen. Über die nämlichen tuberkuloseartigen Knötchen mit Meerschweinchen infolge spontaner Infektion per os berichtet in neuerer Zeit Böfinger[19]). Es handelte sich auch hier um den Bacillus Paratyphi B, wie die morphologische und serologische Untersuchung ergab. Die Tuberkel waren in Milz und Leber und in einem Falle noch in den Lungen lokalisiert. Auch die neuerdings erschienene

Abhandlung von Fränkel und Much[20]) „Über experimentelle Cholecystitis, zugleich ein Beitrag zur Pathogenität des Bacteriums Paratyphi B" erweist, daß der von beiden Autoren gefundene „Gallenparatyphusbazillus" außer der meist eitrigen Cholecystitis noch das Auftreten pseudotuberkulöser Nekroseherde in der Leber von Meerschweinchen und mitunter auch von Kaninchen bewirkte.

Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß außer den drei von Preisz angegebenen Bakterien auch beide Angehörige der Salmonellagruppe Pseudotuberkulose bei Meerschweinchen erzeugen.

Während der letzten Jahre haben sich besonders eine Reihe pseudotuberkulöser Erkrankungen, verursacht durch Bakterien der Paratyphus B-Gruppe, bei Meerschweinchen beobachten lassen. Jetzt, wo man einmal auf derartige Erkrankungen aufmerksam geworden ist und ihr Vorkommen, auf der gleichen ätiologischen Basis beruhend, auch bei anderen Tieren erkannte — Bugge[21]) erwies dies beispielsweise für Kälber —, ist das Interesse, das die Bakteriologie zurzeit an jeglichem Vorkommen dieser Paratyphus B-Bakterien innerhalb des menschlichen und tierischen Körpers ohnedies schon hat, nur noch gewachsen und wohl begründet. Bei alledem erscheint es angezeigt, einen im Hygienischen Institut zu Marburg beobachteten Fall von Meerschweinchenpseudotuberkulose infolge von Spontaninfektion mit Paratyphus B-Bazillen einer eingehenden Untersuchung zu würdigen.

Es werden im folgenden hauptsächlich die nachstehenden Fragen einer Prüfung unterzogen werden:

Bestehen irgendwelche Unterschiede bezüglich des morphologischen, kulturellen, serologischen Verhaltens zwischen dem aus der Pseudotuberkulose gewonnenen Bazillus und den aus menschlichen Erkrankungsfällen gezüchteten Paratyphus B-Stämmen?

Lassen sich im sonstigen Verhalten dieser Stämme (Toxizität, Resistenz gegen Hitze usw., Pathogenität) Abweichungen feststellen?

Sind die durch den Pseudotuberkulosestamm erzeugten histologischen Veränderungen als pseudotuberkulöse im Sinne Eberths aufzufassen?

II.

1. Studium der Eigenschaften des Pseudotuberkulose-Bazillus.

Gegen Ende Juli 1911 wurde im Hygienischen Institut zu Marburg eines Morgens ein bis dahin in keiner Weise vorbehandeltes Meerschweinchen im Stalle tot aufgefunden. Die Sektion zeigte eine stark vergrößerte Milz, die mehrere gelblichweiße, prominente, runde Knötchen von Stecknadelkopf- bis Kleinlinsengröße sowohl an der Oberfläche wie im Innern des Organs erkennen ließ. Die nicht vergrößerte Leber enthielt einige ähnliche Knötchen, die aber weitaus winziger, teilweise makroskopisch nur eben sichtbar waren. Die übrigen Organe wiesen keine pathologischen Veränderungen auf. Irgendeine frische oder ältere Verletzung des Tieres durch Biß oder dgl. war nicht vorhanden.

Durch steril entnommenen Abstrich aus einem Leber- und Milzknoten und aus dem Herzblut auf Agar erhielt man in üppigem Wachstum eine in allen drei Fällen identische Bakterienreinkultur, die sich im hängenden Tropfen als kurze Stäbchen mit ungemein lebhafter Eigenbewegung darstellten. Die Größe dieser Bazillen betrug etwa 2 bis 2½ μ, ihre Breite ca. ½ μ. Sporen, Kapseln und Polkörner waren nicht vorhanden, dagegen ließen sich mit der Löfflerschen Geißelfärbung zahlreiche große, perithrichе Geißeln feststellen. Der Gramfärbung gegenüber verhielt sich der Mikroorganismus negativ.

Zur Identifizierung dieses Bazillus, der nach allem der Erreger der vorgefundenen Pseudotuberkulose zu sein schien, wurden nun damit eingehende kulturelle Untersuchungen angestellt, deren Resultate sich im einzelnen aus folgender Tabelle ergeben:

Agarstrichkultur: Schon nach 15 bis 18 Stunden dicker, blaugrau durchscheinender Rasen.

Bouillon: Deutliche diffuse Trübung, kein Indol.

Peptonwasser: Leichte diffuse Trübung, kein Indol.

Gelatine: Keine Verflüssigung, keine Zerreißung, im Stich vorwiegend Oberflächenwachstum, saftige Kolonien.

Milch: Zunächst unverändert, nach 14 Tagen Aufhellung.

Lackmusmolke: Vollkommene Rötung, vom 8. Tage an Bläuung.

Kartoffel: Dünner farbloser Belag.

Löfflersches Blutserum: Wachstum ohne Verflüssigung oder sonstige Veränderung.

Traubenzuckeragar: Starke Gasbildung, Wachstum bis in die tiefsten Stellen des Nährbodens.

Neutralrot-Traubenzuckeragar: Leichte Gasbildung, vom 4. Tage ab Fluoreszenz im unteren Drittel, am 8. Tage wieder verschwunden.

Milchzuckeragar in hoher Schicht 1proz., mit Zusatz von $^1/_{100}$% Traubenzucker: Überall kleine Gasblasen, in der anaëroben Zone geringe Zerreißung als Zeichen der starken Traubenzuckervergärung und der nur außerordentlich geringen Vergärung des Milchzuckers.

Traubenzuckerbouillon: Gleichmäßige Trübung.

Traubenzuckerbouillon im Gärungsrohr: Lebhafte Vergärung.

Milchzuckerbouillon: Stärkere Trübung als Traubenzuckerbouillon und Bildung schmutzig-weißer Flocken.

Milchzuckerbouillon im Gärungsrohr: Ganz geringe Vergärung (nach 24 Stunden ein etwa erbsengroßes Bläschen an der Kuppe des Gärungsrohres).

Löffler Grünlösung I: Schmutzig-grüne Flocken, an der Oberfläche weißer Schaum.

Löffler Grünlösung II: Aufhellung.

Malachitgrünplatte: Flache farblose Kolonien.

Drigalski-Conradische Lackmus-Milchzuckeragarplatte: Zarte hellblaue Kolonien.

Fuchsinplatte nach Endo: Farblose Kolonien.

Malachitgrün-Safranin-Reinblauplatte nach Löffler: Blau durchscheinende Kolonien mit Metallglanz.

Brillantgrün-Pikrinsäureplatte nach Conradi: Große flache, hellgrüne, durchsichtige Kolonien.

Barsiekows Lackmusnutroselösung mit Zusatz von:

Milchzucker: Diffuse Trübung und Rosafärbung.

Traubenzucker: Ausfällung und Fleischrotfärbung.

Lävulose: Ausfällung und Fleischrotfärbung.

Maltose: Diffuse Trübung und anfangs Rosa-, später Violettfärbung.

Rohrzucker: Unverändert.

Galaktose: Ausfällung und Fleischrotfärbung.

Mannit: Ausfällung und Fleischrotfärbung.

Aus dieser Tabelle geht die Zugehörigkeit des untersuchten Bazillus zur Paratyphus B-Gruppe wohl mit Deutlichkeit hervor. Gleichzeitige Kontrollversuche mit einem Laboratoriumsstamm

Bacillus Paratyphi B-Berlin, der aus einem menschlichen Erkrankungsfall gezüchtet war, ergaben nur einige geringe Abweichungen gegenüber dem kulturellen Verhalten des die Pseudotuberkulose erzeugenden Bazillus. Es bildete nämlich der Bacillus Paraty B auf Kartoffeln einen dicken, graubraunen Belag, während der Pseudotuberkulosebazillus in Form eines dünnen, für das bloße Auge nahezu unsichtbaren Schleiers wuchs, also hierin dem Bacillus Typhi und Bacillus Paraty A ähnelte. In bezug auf Milchzucker differierten beide insofern, als Bacillus Paraty B den Milchzucker vollkommen unvergoren ließ, der Pseudotuberkulosebazillus aber eine ganz geringe Gärung hervorrief, und zwar bildete sich hierbei in Milchzuckerbouillon nach 24 Stunden ein zirka erbsengroßes Bläschen an der Kuppe des Gärungsrohres. Ein entsprechend gleicher Unterschied ergab sich bei einer Stichkultur in ca. 1% igen Milchzuckeragar in hoher Schicht mit Zusatz von $^1/_{100}$% Traubenzucker. Bei Paraty B zeigten sich hier lediglich in der anaëroben Zone kleine Gasblasen, beim Pseudotuberkulosebazillus dagegen überall Gasbläschen und im unteren Drittel geringe Zerreißung, ein Beweis dafür, daß der Paraty B-Bacillus nur die winzige Menge Traubenzucker stark vergoren, der Pseudotuberkulosebazillus jedoch außerdem noch eine ganz geringe Vergärung des Milchzuckers bewirkt hatte. Endlich differierte noch das Verhalten beider Bakterienstämme gegenüber Lackmusmolke, die nach anfänglich vollkommener Rötung vom Paraty B-Bacillus nämlich bereits am dritten Tage, vom Pseudotuberkulosebazillus aber erst vom achten Tage an gebläut wurde. Immerhin sind aber diese genannten Unterschiede relativ unwesentlich, und das gesamte übrige morphologische und kulturelle Verhalten des Pseudotuberkulosebazillus war im großen und ganzen derartig übereinstimmend mit dem des Paraty B-Bacillus Berlin, daß der beschriebene Bazillus der Paraty B-Gruppe zugerechnet zu werden verdient.

Es galt nun, auf serologischem Wege das Resultat der morphologischen und kulturellen Untersuchung nachzuprüfen und gleichzeitig festzustellen, welchem der verschiedenen in die Paraty B-Gruppe gehörigen Bazillen der Pseudotuberkulose-

bazillus am nächsten stehe. Bekanntlich verhalten sich ja, wie Bonhoff[22]) im Jahre 1903 nachwies, einer der bei Fleischvergiftungen gefundenen Bazillen und der Mäusetyphusbazillus in morphologischer, kultureller und biologischer Hinsicht völlig übereinstimmend mit dem echten Bacillus Paraty B, während die zweite bei Fleischvergiftungen gefundene Art, der eigentliche Bacillus enteritidis Gärtner, in seinen biologischen Eigenschaften differiert. Es war also noch die Möglichkeit vorhanden, daß auch der Pseudotuberkulosebazillus in serologischer Hinsicht ein von dem Paraty B-Bazillus abweichendes Verhalten offenbarte und sich etwa als Gärtnerscher Enteritidisbazillus erwies. Schon die Agglutinationsversuche, die von den hier in Betracht kommenden diagnostischen Methoden zunächst gewählt wurden, brachten Klarheit. Es wurde so vorgegangen, daß der Pseudotuberkulosebazillus, von einer 24 stündigen Agarkultur stammend, mit den Seren von Paraty B, Mäusety, Enteritidis Gärtner, Typhus und Paraty A zusammengebracht und das Resultat noch durch ausgedehnte Agglutinationsversuche dieser Seren mit sämtlichen entsprechenden Bakterienarten kontrolliert wurde. Die benutzten Seren waren in der hiesigen hygienischen Abteilung durch Behandlung von Kaninchen mit der betreffenden Bakterienart gewonnen worden. Die ausgeführten Agglutinationsuntersuchungen hatten folgendes Ergebnis:

Serum	Bakterienart	Agglutination vorhanden bis zur Verdünnung:
Paraty-B.-S.	+ Paraty B Bac.	1 : 5000
,,	+ Ps. Tb. ,,	1 : 4000
,,	+ Mäusety ,,	1 : 3000
,,	+ Paraty A ,,	1 : 1000
,,	+ Gärtner ,,	1 : 500
,,	+ Typhus ,,	1 : 800
Mäusety.-S.	+ Mäusety Bac.	1 : 3000
,,	+ Paraty B ,,	1 : 2000
,,	+ Ps. Tb. ,,	1 : 2000
,,	+ Gärtner ,,	1 : 50
,,	+ Paraty A ,,	1 : 300
,,	+ Typhus ,,	1 : 10

Serum	Bakterienart	Agglutination vorhanden bis zur Verdünnung:
Gärtner-S.	+ Gärtner Bac.	1 : 3000
,,	+ Paraty B ,,	1 : 50
,,	+ Ps. Tb. ,,	1 : 50
,,	+ Mäusety ,,	1 : 50
,,	+ Paraty A ,,	1 : 100
,,	+ Typhus ,,	1 : 500
Typhus-S.	+ Typhus Bac.	1 : 10000
,,	+ Paraty B ,,	1 : 200
,,	+ Ps. Tb. ,,	1 : 200
,,	+ Mäusety ,,	1 : 200
,,	+ Gärtner ,,	1 : 500
,,	+ Paraty A ,,	1 : 100
Paraty-A.-S.	+ Paraty A Bac.	1 : 2000
,,	+ Paraty B ,,	1 : 500
,,	+ Ps. Tb. ,,	1 : 300
,,	+ Mäusety ,,	1 : 400
,,	+ Gärtner ,,	1 : 300
,,	+ Typhus ,,	1 : 500

Es zeigte demnach der Pseudotuberkulosebazillus sowohl mit Paraty B-Serum als auch mit Mäusety-Serum eine deutliche Agglutination noch nahezu bis zur Titergrenze. Von den drei übrigen Seren, also Gärtner-, Typhus- und Paraty A-Serum, wurde der Pseudotuberkulosebazillus in gleicher Weise wie der Para B- und Mäusety-Bazillus beeinflußt. Eine völlig gleichstarke Agglutination dieser drei Bakterienarten trat zwar nur bei Gärtner- und Typhusserum ein, so daß hier für alle drei Mikroorganismen offenbar dieselbe Menge von Paragglutininen vorhanden war; doch war auch der Unterschied dieser drei Bakterienarten in der Agglutinationsgrenze mit Paraty A-Serum derartig gering und von wenig Belang, daß hieraus wohl kaum eine Differenz im serologischen Verhalten zwischen Pseudotuberkulosebazillus einerseits und Para B und Mäusety-Bazillus anderseits konstruiert werden kann.

Durch Präzipitation ließ sich das gefundene serologische Resultat erhärten.

Hierzu wurde eine mit Dimethylamin hergestellte Bazillenemulsion verwandt. Diese wurde in der Weise bereitet, daß 20 Platinösen von 24stündigen Kulturen möglichst fein in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und dieser Bazillenaufschwemmung 0,3 ccm einer 33 proz. Dimethylaminlösung zugegeben wurden, so daß eine 1 proz. Dimethylaminlösung resultierte. Um die Bazillen vollständig aufzulösen, wurde die Emulsion ca. 48 Stunden lang im Wasserbade auf 56° erhitzt. Diese Lösung wurde nun noch 1 : 10 mit Kochsalz verdünnt. Alsdann wurden hiervon 0,9 ccm mit 0,1 ccm der auch zur Agglutination benutzten Sera in verschiedenen Verdünnungen zusammengebracht.

Das Resultat gibt folgende Tabelle wieder:

	Serum	Verdünnung 1:10	1:50	1:100	1:200
Bazillen-Emulsion mit Dimethylamin +	Paraty B-Serum . .	++	++	—	—
	Mäusety-Serum . .	++	++	—	—
	Gärtner-Serum . .	++	schwach +	—	—
	Typhus-Serum . .	+	—	—	—
	Paraty A-Serum . .	+	—	—	—

Die weißen Präzipitatringe traten bei Paraty B-Serum, Mäusety- und Gärtnerserum in Verdünnungen von 1 : 10 besonders stark auf, waren jedoch auch bei Typhus- und Paraty A-Serum deutlich vorhanden. Aber schon in der nächststärkeren Verdünnung 1 : 50 fiel die Reaktion lediglich bei Paraty B- und Mäusety-Serum einwandfrei positiv aus; die Präzipitation mit Gärtnerserum blieb in ihrer Stärke weit hinter den beiden eben genannten zurück, war aber noch vorhanden, was sich mit der engen Verwandtschaft, die zwischen Gärtner- und Paraty B-Bacillus besteht, gut in Einklang bringen läßt. Typhus- und Paraty A-Serum präzipitierten in dieser Verdünnung bereits nicht mehr. In stärkeren Verdünnungen als 1 : 50 trat auch bei den homologen Seren kein Präzipitat mehr auf. Bemerkenswert erscheint noch, daß die Präzipitatringe bei Paraty B-Serum und Mäusety-Serum bereits nach

wenigen Minuten, bei den übrigen Seren erst nach geraumer Zeit eintraten. — Ein Kontrollversuch mit den in Dimethylamin gelösten, vom Menschen stammenden Paraty B-Bazillen verlief genau in der gleichen Weise.

Zur Komplementbindungsreaktion wurden 10 Ösen Pseudotuberkulosebazillen in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben, und diese Bazillenemulsion noch durch Zugabe von 0,1 ccm Chloroform sterilisiert. Nachdem die Emulsion drei Tage lang bei Zimmertemperatur belassen war, wurde das Chloroform durch Erwärmen auf 37° zum Verdunsten gebracht und dann die Emulsion in verschiedenen Verdünnungen ohne Serumzugabe auf etwaige Selbsthemmung hin ausgewertet. Dabei erwies sich erst eine Verdünnung von 1 : 300 als brauchbar. Diese wurde nun mit Typhus-, Paraty A-, Paraty B-, Mäusety- und Gärtnerserum zusammengegeben. Nach Zusatz von Komplement, bestehend aus frisch erhaltenem Meerschweinchenserum, wurden sämtliche Röhrchen eine Stunde der Bruttemperatur ausgesetzt und dann das hämolytische System (Hammelblutkörperchen und dazu passendes Kaninchenhämolysin) zugefügt. Versuchsanordnung und Resultate gehen aus folgender Tabelle hervor:

1 ccm Bac. Emuls. 1 : 300	+ 1 ccm Paraty B-Ser. 1 : 10	+ 1 ccm Komplement 1 : 10	+ 1 ccm Hämolysin + 1 ccm Blut 1 : 20	= geringe Hemmung der Haemolyse
do.	1 ccm Mäusety-Ser. 1 : 10	do.	do.	do.
do.	1 ccm Gärtner-Ser. 1 : 10	do.	do.	= komplette Haemolyse
do.	1 ccm Typhus-Ser. 1 : 10	do.	do.	do.
do.	1 ccm Paraty A-Ser. 1 : 10	do.	do.	do.

Die zwar schwache aber doch einwandfrei vorhandene Hämolysenhemmung bei Paraty B- und Mäusety-Serum im Gegensatz zur völligen Lösung in den übrigen Seren bewies also, daß eine gewisse, wenn auch nicht gerade starke Beziehung zwischen Pseudotuberkulosebazillus einerseits und Paraty B- und Mäusety-Serum anderseits bestand. Daß keine komplette Hemmung eintrat, konnte recht gut auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß die benutzten Seren keine bakteriolytischen, sondern im wesentlichen agglutinierende Seren waren. Immerhin war das Resultat im Rahmen der sonstigen Untersuchungen doch wohl verwendbar, zumal ein Kontrollversuch mit in gleicher Weise emulsionierten Paraty B-Bazillen mit demselben Paraty B- und Mäusety-Serum auch nur eine geringe Hemmung der Hämolyse eintreten ließ.

So war nun das untersuchte Bakterium entweder als Paraty B- oder als Mäusety-Bazillus zur Genüge charakterisiert. Zur Klärung der Frage, welcher von diesen beiden Organismen, die übrigens von einer ganzen Reihe von Autoren als völlig identisch betrachtet werden, im gegebenen Falle vorlag, wurde eine von Löffler (Zentralbl. f. Bakt. I, Ref. Bd. 38, Beiheft S. 45) angegebene Differenzierungsmethode gewählt. Es handelt sich dabei um eine mit Malachitgrün gefärbte, im wesentlichen neben Pepton und bestimmten Salzen 1% Traubenzucker und 5% Milchzucker enthaltende Rindfleischbouillon, in welcher der Mäusety-Bazillus angeblich eine sehr starke gleichmäßige Trübung erzeugt, der Paraty B-Bazillus dagegen einen dicken Bodensatz in der sonst klaren Lösung bilden soll. Dies Verfahren wurde mit dem Pseudotuberkulosebazillus unter gleichzeitiger Kontrolle mit Paraty B-, Mäusety-, Gärtner- und Typhusbazillen geprüft. Das Ergebnis lautete folgendermaßen:

Mäusety-Bazillen: sehr üppiges Wachstum unter Erzeugung einer starken, gleichmäßigen Trübung.

Paraty B-Bazillen: Völlig klare Lösung mit Bildung eines starken Bodensatzes.

Pseudotuberkulosebazillen: Bodensatzbildung bei anfänglich leichter diffuser Trübung, die vom fünften Tage an ganz schwindet.

Typhusbazillen: Klare Flüssigkeit und dicker Bodensatz.

Gärtnerbazillen: Vollkommen klare Lösung mit starkem Bodensatz.

Die Angaben Löfflers fanden also auch bei den benutzten Paraty B- und Mäusety-Stämmen ihre Bestätigung. Dagegen zeigte der Pseudotuberkulosebazillus anfänglich ein eigenartiges Verhalten, das weder für die eine noch für die andere Bakterienart als charakteristisch zu bezeichnen wäre. Durch die leichte diffuse Trübung näherte er sich dem Typus des Mäusetyphusbazillus, durch die Bodensatzbildung dem des Bacillus Paraty B. Erst vom fünften Tage an änderte sich das Bild, die schwache Trübung schwand allmählich und der Bodensatz wurde stärker, so daß nunmehr die Lösung der Kultur des Paraty B-Bazillus wirklich völlig ähnelte. Sooft auch diese Versuchsanordnung nachgeprüft wurde, bot der Pseudotuberkulosebazillus immer wieder ein ganz gleiches Verhalten. Er kann daher doch wohl entschieden als mit dem Paratyphus B-Bazillus identisch angesprochen werden. Vielleicht handelt es sich dabei um eine an Meerschweinchen angepaßte Varietät des Paraty B-Bazillus, die in ihrem Verhalten gegenüber dem neuen Löfflerschen Nährboden in der Mitte steht zwischen dem an Mensch und Schlachttiere angepaßten Paraty B-Bazillus einerseits, dem an Mäuse angepaßten Paraty B-Bazillus (Mäusety-Bacillus) anderseits.

Da aber das kulturelle und serologische Verhalten des Pseudotuberkulosebazillus immerhin einige, wenn auch geringe Differenzen gegenüber dem Paratyphusstamm des Laboratoriums bot, wurden zur vergleichenden Untersuchung noch einige weitere Methoden herangezogen. So wurde zunächst eine Prüfung auf Resistenz gegen höhere Temperaturen, die ja für die Paraty B-Gruppe ziemlich beträchtlich ist, angestellt. Es wurde von beiden Bakterienarten eine Öse in je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und diese Emulsion ins Wasserbad von 60° C gebracht. Nach 5, 10, 15, 20, 25, 30 und 35 Minuten wurden aus beiden Röhrchen Agarabstriche gemacht, die sich nach 24 stündigem Verweilen im Brutschrank in folgender Weise entwickelten:

Zeit	Para B:	Ps.-Tb.:
Nach 5 Minuten . .	Dicker Bakterienrasen	Dicker Bakterienrasen
Nach 10 Minuten . .	Reichliche Kolonien	Spärliche Kolonien
Nach 15 Minuten . .	Reichliche Kolonien	Steril
Nach 20 Minuten . .	Ziemlich reichl. Kolonien	Steril
Nach 25 Minuten . .	Vereinzelte Kolonien	Steril
Nach 30 Minuten . .	Steril	Steril
Nach 35 Minuten . .	Steril	Steril

Bei zweimaliger Nachprüfung ergaben sich im wesentlichen die gleichen Resultate. Es erwies sich demnach der Pseudotuberkulosebazillus als weit weniger widerstandsfähig gegen höhere Temperaturen als der Paratyphusstamm des Laboratoriums. Schon ein 15 Minuten langes Verweilen bei 60° C vermochte die Pseudotuberkulosebazillen vollkommen abzutöten, während erst ein doppelt so lange dauerndes Erwärmen die Lebensfähigkeit der Paratyphus B-Bazillen zu vernichten imstande war.

Des weiteren wurden beide Bakterienstämme auf etwaige Fadenreaktion hin untersucht.

1,8 ccm steriler Bouillon wurden zu diesem Zwecke mit 0,2 ccm Paratyphus- bzw. Pseudotuberkulose-Serum, das auf später zu besprechende Weise von Kaninchen gewonnen war, versetzt, so daß eine Serumverdünnung 1 : 10 entstand. Hierhinein wurde je eine kleine Öse aus 24stündigen Agarkulturen verrieben, und zwar wurden beide Bakterienstämme auch mit beiden Seren zusammengebracht. Aus diesen 4 Röhrchen, die alle ausgesprochene Agglutination zeigten, wurde alle 2 Tage in genau so hergestellte Serumverdünnungen weiter überimpft. Gleichzeitig wurde jedesmal mikroskopisch untersucht, ob die Bakterien sich bereits zu langen Fäden aneinandergereiht hätten. Die Resultate waren folgende:

Paratyphus B-Bazillen und Paratyphus-Serum: Bereits am 4. Tage beginnende Fadenbildung, am 6. Tage deutlich und am 8. Tage in voller Stärke vorhanden.

Paratyphus B-Bazillen und Pseudotuberkulose-Serum: Am 6. Tage tritt die Fadenreaktion auf und ist am 8. Tage ausgesprochen.

Pseudotuberkulose-Bazillen und Pseudotuberkulose-Serum: Fadenbildung am 6. Tage eben angedeutet und erst am 10. Tage deutlich vorhanden.

Pseudotuberkulose-Bazillen und Paratyphus B-Serum: Fadenreaktion am 6. Tage angedeutet, am 8. Tage etwas deutlicher, nimmt aber später an Stärke nicht mehr zu.

Also auch hier ergab sich eine Differenz zwischen Paraty B- und Pseudotuberkulosebazillen. Die Fadenreaktion begann für Paraty B-Bazillen im homologen Serum schon am vierten Tage, im Pseudotuberkuloseserum am sechsten Tage. Bei den Pseudotuberkulosebazillen trat sie dagegen entschieden langsamer auf. Sie war hierbei in beiden Seren am sechsten Tage nur eben angedeutet, entwickelte sich im Pseudotuberkuloseserum erst am zehnten Tage deutlich und erreichte im Paraty B-Serum überhaupt nicht ihre sonstige Stärke; nur Bazillenketten aus zwei bis höchstens vier Gliedern traten hierbei auf. Offenbar scheint also der Pseudotuberkulosebazillus eine weit geringere Neigung zur Fadenreaktion zu besitzen als der zum Vergleich herangezogene Laboratoriums-Paratyphus B-Bazillus.

Der Pseudotuberkulosebazillus unterscheidet sich demnach von dem Paraty B-Bakterium in folgenden Punkten:

1. Er bildet auf Kartoffeln einen dünnen, kaum sichtbaren Schleier anstatt eines dicken, graubraunen Belages.
2. Er verursacht eine ganz geringe Vergärung des Milchzuckers.
3. Er bläut Lackmusmolke erst nach 8 Tagen.
4. Er bildet in dem von Löffler zur Differenzierung von Paraty B- und Mäusety-Bazillen angegebenen Nährboden nicht sofort, sondern erst vom fünften Tage an eine völlig klare Lösung.
5. Er besitzt eine weit geringere Resistenz gegen Hitze und
6. eine weniger starke Neigung zur Fadenreaktion.

2. Infektionsversuche an Meerschweinchen.

A. Durch subkutane und intraperitoneale Injektion.

Sollte sich die Annahme als richtig erweisen, daß der beschriebene Mikroorganismus tatsächlich der Infektionserreger der tödlich verlaufenden Pseudotuberkulose des Meerschweinchens war, so mußte man mit ihm auch durch während längerer Zeit auf künstlichem Nährboden fortgezüchtete Kulturen experimentell dasselbe Krankheitsbild erzeugen können. Es wurde daher durch subkutane und intraperitoneale Injektionen versucht, Meerschwein-

(Fortsetzung des Textes S. 346.)

I. Subkutan injizierte Meerschweinchen.

Lfd. Nr.	Dosis	Injektionstag	Todestag	Zeitdauer zwischen Injektion und Todestag	Bakteriologischer Befund	Pseudotuberkulöse Herde in:
1	$^1/_{100}$ Öse	30. VIII. 11	6. IX. 11	7 Tage	Reinkultur aus Herzblut	Milz
2	$^1/_{100}$ „	30. X. 11	5. XI. 11	6 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber
3	$^1/_{1000}$ „	30. VIII. 11	10. IX. 11	11 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz
4	$^1/_{1000}$ „	30. X. 11	20. XII. 11 getötet	7 Wochen	H. Bl. steril	—
5	$^1/_{10\,000}$ „	12. IX. 11	17. X. 11 getötet	5 Wochen	Spärl. Kolonien v. Ps. Tb. Bazillen	Milz, Leber
6	$^1/_{10\,000}$ „	12. IX. 11	12. XII. 11 getötet	13 Wochen	H. Bl. steril	—
7	$^1/_{10\,000}$ „	16. XI. 11	18. II. 12 tot	$13^1/_2$ Wochen	H. Bl. steril Kokken a. Mesent. Drüsen	Leber
8	$^1/_{20\,000}$ „	19. X. 11	29. X. 11	11 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber, Lunge
9	$^1/_{20\,000}$ „	19. X. 11	11. XI. 11	23 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber, Lunge
10	$^1/_{100\,000}$ „	30. X. 11	9. XI. 11	10 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz
11	$^1/_{100\,000}$ „	16. XI. 11	21. XII. 11 getötet	5 Wochen	H. Bl. steril	—
12	$^1/_{1\,000\,000}$ Öse	16. XI. 11	24. XI. 11	8 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber
13	$^1/_{10\,000\,000}$ „	5. XII 11	9. XII 11	4 Tage	Mischinfektion	—
14	$^1/_{10\,000\,000}$ „	5. XII 11	18. XII. 11	13 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber Nieren
15	$^1/_{100\,000\,000}$ „	4. I. 12	28. III 12 getötet	12 Wochen	H. Bl. steril	—
16	$^1/_{100\,000\,000}$ „	4. I. 12	14. III. 12	10 Wochen	Spärl. Kolonien aus Ps. Tb. Herden H. Bl. steril	Milz, Leber Lunge
17	$^1/_{1\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	1. II. 12 getötet	4 Wochen	Vereinz. Kolonien aus H. Bl.	—
18	$^1/_{1\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	28. III. 12	12 Wochen	Steril	—

II. Intraperitoneal injizierte Meerschweinchen.

Lfd. Nr.	Dosis	Injektionstag	Todestag	Zeitdauer zwischen Injektion und Todestag	Bakteriologischer Befund	Pseudotuberkulöse Herde in:
19	$^1/_{100}$ Öse	30. VIII. 11	31. VIII. 11	24 Std.	Reinkultur aus Herzblut	—
20	$^1/_{1000}$ „	29. IX. 11	1. X. 11	2 Tage	R. K. a. H. Bl.	—
21	$^1/_{1000}$ „	30. X. 11	5. XI. 11	6 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber
22	$^1/_{10\,000}$ „	29. IX. 11	2. X. 11	3 Tage	R. K. a. H. Bl.	—
23	$^1/_{10\,000}$ „	29. IX. 11	8. XII. 11 getötet	10 Wochen	H. Bl. steril	—
24	$^1/_{10\,000}$ „	16. XI. 11	21. XII. 11 getötet	5 Wochen	Herzblut u. Galle steril, aus Ps. Tb. Herden der Milz vereinz. Kolonien	Milz, Leber, Niere, Lunge
25	$^1/_{20\,000}$ „	19. X. 11	22. X. 11	3 Tage	R. K. a. H. Bl.	—
26	$^1/_{20\,000}$ „	19. X. 11	16. XI. 11 getötet	4 Wochen	Spärl. Kolonien a. H. Bl.	Milz, Leber
27	$^1/_{100\,000}$ „	30. X. 11	5. XI. 11	6 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Lungen
28	$^1/_{100\,000}$ „	16. XI. 11	25. XI. 11	9 Tage	R. K. a. H. Bl.	—
29	$^1/_{1\,000\,000}$ Öse	16. XI. 11	11. III. 12 getötet	$16^1/_2$ Wochen	H. Bl. steril	—
30	$^1/_{10\,000\,000}$ „	5. XII. 11	14. XII. 11	9 Tage	R. K. a. H. Bl.	—
31	$^1/_{10\,000\,000}$ „	5. XII. 11	15. XII. 11	10 Tage	R. K. a. H. Bl.	Milz, Leber
32	$^1/_{100\,000\,000}$ „	4. I. 12	13. I. 12	9 Tage	Mischinfektion	—
33	$^1/_{100\,000\,000}$ „	4. I. 12	21. II. 12	ca. 7 Wochen	H. Bl. steril	Milz, Leber
34	$^1/_{1000\,000\,000}$ „	4. I. 12	9. II. 12	ca. 5 Wochen	H. Bl. steril	—
35	$^1/_{1000\,000\,000}$ „	4. I. 12	15. II. 12 getötet	6 Wochen	H. Bl. steril	—

chen mit den Pseudotuberkulosebazillen zu infizieren, und zwar wurde jedesmal 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, in die eine bestimmte Menge einer 24 stündigen Kultur verrieben war, den betreffenden Versuchstieren einverleibt. In der Tat glückte es so auch, künstliche Pseudotuberkulosen bei den meisten behandelten Meerschweinchen zu erzeugen. Zur besseren Übersicht seien hier zunächst die Ergebnisse in folgenden beiden Schemata auf Seite 22 und 23 wiedergegeben.

Was bei diesen Tierversuchen zunächst auffiel, war die außerordentlich hohe Virulenz des Pseudotuberkulosebazillus für Meerschweine. Noch in Verdünnungen von 1: 100 000 000*) konnte der Mikroorganismus seine Wirksamkeit entfalten und die typischen Erscheinungen an den großen Organen hervorrufen. Aber nicht sämtliche Tiere erkrankten auf die Injektionen hin, ja einige selbst dann nicht, wenn sie mit einer ziemlich beträchtlichen Bazillendosis behandelt wurden; diese Tiere blieben vielmehr völlig gesund und gaben, als sie einige Wochen später getötet wurden, vollkommen sterile Blutabstriche. Es waren also diese Meerschweinchen wohl der Bakterien Herr geworden, und offenbar war auch für diese Infektion eine gewisse Disposition erforderlich. Immerhin aber hat doch die überwiegende Mehrzahl der Tiere mit der Bildung der charakteristischen Knötchen reagiert, zumal wenn man bei der Beurteilung aus obigen Tabellen noch diejenigen Tiere in Abzug bringt, welche eine allzu geringe Bakteriendosis bekamen, und ebenso solche, bei denen der Tod allzufrüh eintrat, ehe überhaupt genügende Zeit zur Herdbildung verstrichen war. Dem Einwand, daß die geimpften Tiere ihre Pseudotuberkulose nicht der Impfung, sondern einer natürlichen Akquisition verdankten, läßt sich bis zu einem gewissen Grade durch die Tatsache begegnen, daß unter unserem übrigen, aus gleicher Quelle bezogenen Tiermaterial diese Pseudotuberkulose zur Zeit meiner Versuche kaum wieder vorkam.

*) Durch Kontrolle dieser Verdünnung mit Hilfe der Übertragung einer Spur derselben auf Agar wurde der Nachweis von 5 Paratyphus-Kolonien gebracht.

Von den 17 Meerschweinchen mit positivem Befund gingen 14 an dieser Erkrankung spontan ein, allerdings einige erst nach langen Wochen. Von den drei übrigen wurde eines (Nr. 26) nach vier, die beiden anderen (Nr. 5 und Nr. 24) nach je fünf Wochen getötet, ohne daß sie äußerlich irgendwelche Krankheitssymptome verrieten. Erst die Sektion gab den oben angedeuteten pathologischen Befund. Ob diese Tiere nach einiger Zeit ebenfalls spontan ihrer Infektion erlegen wären, läßt sich natürlich nicht feststellen, doch sprechen zwei Gründe dafür. Einmal nämlich ließ sich der verimpfte Bazillus in allen drei Fällen noch aus dem Blute züchten, und anderseits gingen einige der übrigen Meerschweinchen auch erst in späteren Wochen an der Erkrankung zugrunde. Somit würde es sich bei der vorliegenden Pseudotuberkulose um eine schleichend verlaufende, aber wohl stets tödlich endende Infektionskrankheit der Meerschweinchen handeln.

Die Prädilektionsstelle der lokalen Herdsymptome scheint für Meerschweinchen die Milz zu sein. Hier fanden sich die Knötchen bei den oben erwähnten 17 Tieren in allen Fällen mit nur einer einzigen Ausnahme (Nr. 7). Bei einigen Meerschweinchen war lediglich die Milz befallen; waren aber mehrere Organe beteiligt, dann zeigte stets die Milz schon weiter fortgeschrittenere Stadien. In zweiter Linie kommen für die Lokalisation der Pseudotuberkel die Leber, die Lunge und schließlich die Niere in absteigender Skala in Betracht. Erwähnenswert ist noch die auffallend rasche Bildung der tuberkelartigen Nekroseherde, denn schon vom sechsten Tage nach der Injektion an konnten diese unverkennbar bereits in Stecknadelkopfgröße nachgewiesen werden.

Zweier Besonderheiten bei den Sektionsbefunden muß noch gedacht werden. Zunächst war dies die merkwürdige Erscheinung, daß bei den meisten Tieren, unabhängig von dem Infektionsmodus, im subkutanen Zellgewebe eine starke Hyperämie und verschiedene diffuse Hämorrhagien auftraten, und zwar auch dann, wenn keine Pseudotuberkuloseherde sich bildeten. Zum anderen war es das reichliche Vorkommen der Bazillen in der Gallenblase. Hier wurden diese verschiedentlich in großer Menge nachgewiesen,

selbst wenn das Blut nur wenig Bakterien enthielt, — wiederum ein Beweis für die ja schon so oft betonte Affinität der Paraty B-Bakterien zur Galle.

Einige Berichte positiver Sektionsbefunde mögen das Krankheitsbild noch etwas eingehender illustrieren:

Meerschweinchen Nr. 1. ($^1/_{100}$ Öse subkutan, Tod nach 7 Tagen.)

Sektionsbefund: Eitriges, ca. 2-Markstück großes Infiltrat an der Impfstelle. Unterhautzellgewebe reichlich mit Blut injiziert und an einigen Stellen hämorrhagisch verfärbt. Milz etwa aufs Doppelte vergrößert, dunkel, enthält mehrere stecknadelkopfgroße, runde, helle, weißgelbliche Knötchen. Die sonstigen Organe ohne Besonderheiten. Abstriche von der Impfstelle und aus dem Herzblut ergeben Reinkulturen von Stäbchen, die sich bei morphologischer und serologischer Untersuchung als die verimpften Pseudotuberkulosebazillen erweisen.

Meerschweinchen Nr. 5. ($^1/_{10\,000}$ Öse subkutan; ohne merkliche Krankheitssymptome; wird nach 5 Wochen getötet.)

Sektionsbefund: Keine wesentlichen Veränderungen im subkutanen Gewebe. Milz und Leber stark vergrößert und eigentümlich dunkelbraun verfärbt, enthalten beide einige übersteckknadelkopfgroße Pseudotuberkel. Aus Blut wachsen spärliche Kolonien des Pseudotuberkulosebazillus, aus Leber und Milz reichlicher.

Meerschweinchen Nr. 7. ($^1/_{10\,000}$ Öse subkutan, Tod nach 13½ Wochen.)

Sektionsbefund: Keine Blutungen unter der Haut. Milz klein und hell, Leber von dunkelroter Farbe, mit drei miliaren Herden. Mesenterialdrüsen vereitert. Abstriche aus Blut und Lebertuberkeln bleiben steril, aus dem Mesenterialdrüseneiter werden Kokken gezüchtet.

Meerschweinchen Nr. 8. ($^1/_{20\,000}$ Öse subkutan, Tod nach 11 Tagen.)

Sektionsbefund: Starke Gefäßhyperämie und reichliche Haemorrhagien unter der Cutis. Geringes seröses Exsudat in der Bauchhöhle. Milz aufs Zwei- bis Dreifache vergrößert, dunkelbraun, dicht besät und durchsetzt mit hellen, hirsekorngroßen Tuberkeln. Leber leicht vergrößert, zeigt ebenfalls mehrere kleine Knötchen, Gallenblase mit praller Füllung. Beide Nieren ziemlich stark vergrößert. Die beiderseitigen Lungenunterlappen sind dunkelrot und derb infiltriert, und darin eingebettet liegen einige Knötchen. Aus Blut und Gallenabstrichen wachsen üppige Reinkulturen von Pseudotuberkulosebazillen.

Meerschweinchen Nr. 12. ($^1/_{1\,000\,000}$ Öse subkutan, Tod nach 8 Tagen.)

Sektionsbefund: Dickes, talergroßes Infiltrat an der Impfstelle. Ausgedehnte Hyperämien und Haemorrhagien unter der Haut. Milz von tiefbrauner Farbe, 4—5 fach vergrößert, dicht besät mit Tuberkeln bis

zu Hanfkorngröße. Leber mäßig geschwollen, mit mehreren zackrandigen, nicht prominenten, grauweißen Herden. Das Blut enthält lediglich den Pseudotuberkulosebazillus.

Meerschweinchen Nr. 14. ($^1/_{10\,000\,000}$ Öse subkutan, Tod nach 13 Tagen.)

Sektionsbefund: Leichte subkutane Blutungen. Ganz geringer seröser Peritonealerguß. Milz sehr groß, dicht besetzt mit winzigen gelblichen Herden. Leber zeigt etwa 6 bis 7 stecknadelkopfgroße Knötchen. Nieren und Nebennieren stark vergrößert und fleckig verfärbt. Die linke Niere zeigt zwei submiliare Tuberkel, die rechte Niere an ihrer Oberfläche am oberen Pol einen etwa linsengroßen, weißen, prominenten Knoten und in dessen Umgebung noch drei weitere von Hirsekorngröße. Aus Herzblut und Bauchhöhle werden Pseudotuberkulosebazillen in üppiger Reinkultur gezüchtet.

Meerschweinchen Nr. 24. ($^1/_{10\,000}$ Öse intraperitoneal, getötet nach 5 Wochen.)

Sektionsbefund: Keine Haemorrhagien unter der Cutis. Bauchhöhle frei von Exsudat. Milz ums Dreifache vergrößert, mit mehreren fast erbsengroßen, scharf umrandeten Knoten, die von zahlreichen kleinen Knötchen umgeben sind. Leber zeigt 4 bis 5 submiliare Herde im Innern des Organs. Linke Niere enthält am oberen Pol zwei oberflächlich gelegene stecknadelkopfgroße Tuberkel. Rechte Niere ohne Besonderheiten. Linke Lunge im Unterlappen derb und dunkelrot, mit zwei eingelagerten Knötchen von Hirsekorngröße. Abstriche aus Herzblut und Galle bleiben steril. Aus einem der großen Milztuberkel wachsen vereinzelte Kolonien, die sich als Pseudotuberkulosebazillen erweisen.

Meerschweinchen Nr. 27. ($^1/_{100\,000}$ Öse intraperitoneal, Tod nach 6 Tagen.)

Sektionsbefund: Starke Blutfüllung der subkutanen Gefäße, mit reichlichem Blutaustritt an verschiedenen Stellen, mäßiger serofibrinöser Peritonealerguß mit Fibrinbelägen an den Bauchorganen. Milz aufs Doppelte vergrößert, von dunkler Farbe, zeigt mehrere stecknadelkopfgroße Pseudotuberkel. Leber ohne pathologische Veränderungen. Serofibrinöser Belag auch in beiden Brusthöhlen. Rechte Lunge zeigt in Mittel- und Unterlappen zirkumskripte dunkelrote Infiltrate und darin einige ganz kleine Knötchen. Herzbeutel mit reichlichen Fibrinauflagerungen bedeckt. Blut-, Brust- und Bauchhöhlenabstriche ergeben Reinkulturen von Pseudotuberkulosebazillen.

B. Durch Verfütterung.

Diese charakteristischen Sektionsbefunde haben wohl zur Genüge bewiesen, daß der geschilderte Bazillus tatsächlich die Pseudotuberkulose bei den ursprünglich eingegangenen Meer-

schweinchen hervorgerufen hatte. Wie aber war dieses Bakterium in den Blutkreislauf des Tieres hineingelangt? Das Fehlen jeglicher äußerer Verletzungen und subkutaner Veränderungen machte den Gedanken an eine von der Haut ausgehende Infektion von vornherein recht unwahrscheinlich. Es lag vielmehr nahe, den Modus der natürlichen Infektion per os anzunehmen, wie das auch Bofinger bereits für die von ihm beobachteten Tiere getan hatte. Nachdem Vagedes[23]) als erster die Möglichkeit einer Paratyphuserzeugung durch Fütterung nachgewiesen hatte, war es bisher einzig und allein Dieterlen[18]) gelungen, durch Verabreichung von Paraty B-Bazillen per os künstliche Pseudotuberkulosen bei zwei Meerschweinchen zu erhalten. Nur noch Fränkel und Much[20]) haben außer ihm tuberkelähnliche Nekroseherde in der Leber von Meerschweinchen auf gleichem Wege experimentell erzeugen können, allerdings gewissermaßen als Nebenbefund einer im Vordergrund des Bildes stehenden eitrigen Cholezystitis. So wurde denn auch mit dem vorliegenden Bazillus der Versuch gemacht, durch stomachalen Infektionsmodus das beschriebene Krankheitsbild künstlich hervorzurufen. Man ging so vor, daß man Brotstücke mit je 5 ccm Bouillon übergoß, in die kurz vorher eine Öse der betreffenden Bakterien verrieben worden war, und dieses so infizierte Material drei Meerschweinchen (Nr. 36, 37 und 38) getrennt vorlegte. Die Tiere hatten das Brot in kurzer Zeit aufgefressen, blieben aber von Krankheitserscheinungen völlig frei und gaben, als sie vier Wochen später getötet wurden, völlig negativen Befund und sterile Blutabstriche. Die Dosis war offenbar für eine enterale Infektion zu gering gewesen. Man verrieb daher von neuem eine Öse in je 5 ccm Bouillon, ließ diese aber nun zuvor noch 24 Stunden im Brutschrank stehen und brachte sie erst dann in gleicher Weise auf die einzelnen Brotstücke. Gleichzeitig wurde ein zweiter Weg gewählt, indem man mit Hilfe der Schlundsonde eine bestimmte Menge einer ebenso hergestellten Bouillonkultur den Tieren direkt in den Magen hineingab. Beide Fütterungsarten führten zum Ziele, wie aus nachfolgender Übersicht zu ersehen ist:

Fütterungsmeerschweinchen.

Lfd. Nr.	Dosis	Fütterungstag	Todestag	Zeitdauer vom Fütterungs- bis Todestag	Pseudotuberkulöse Herde in:	Bakteriologischer Befund
39	Brot m. 5 ccm Bouillon	7. IX. 11	11. IX. 11	4 Tage	—	Reinkultur aus Herzblut
40	,,	7. IX. 11	15. IX. 11	8 Tage	Milz	R.-K. a. H. Bl., Bazillen auch aus dem Darm
41	,,	24. XI. 11	18. XII. 11	$3^1/_2$ Wochen	Milz, Leber	R. K. a. H. Bl., Baz. auch aus Darm
42	,,	24. XI. 11	29. I. 12	$9^1/_2$ Wochen	Milz, Leber Lunge	Recht spärl. Wachstum v. Ps. Tb. Baz. aus H. Bl. Starkes Wachstum aus den Tuberkeln
43	,,	24. XI. 11	19. II. 12 getötet	$12^1/_2$ Wochen	—	Steriles Blut
44	3 ccm Bouillon m. Schlundsonde	24. XI. 11	27. XI. 11	3 Tage	—	R. K. a. H. Bl.
45	1 ccm mit Schlundsonde	24. XI. 11	29. XI. 11	5 Tage	Milz, Leber, Lunge	R. K. a. H. Bl.
46	$^1/_2$ ccm mit Schlundsonde	24. XI. 11	30. XI. 11	6 Tage	Leber	Aus H. Bl. Ps. Tb.-Baz. und Staphylokokken, aus Galle R. K. v. Ps. Tb. Baz.
47	3 ccm mit Schlundsonde	21. II. 12	12. III. 12	fast 3 Wochen	Milz	R. K. a. H. Bl.
48	1 ccm mit Schlundsonde	21. II. 12	16. III. 12	$3^1/_2$ Wochen	Milz	Einzelne Kolonien aus H. Bl.
49	$^1/_2$ ccm mit Schlundsonde	21. II. 12	28. III. 12	ca. 5 Wochen	Milz, Leber	Spärliche Kolonien aus H. Bl.

Von den positiven Sektionsbefunden seien auch hier einige wiedergegeben:

Meerschweinchen Nr. 40. (Brot mit 5 ccm infizierter Bouillon, Tod nach 8 Tagen.)

Sektionsbefund: Erheblich abgemagertes Tier. Einige Haemorrhagien im Unterhautzellgewebe. Geringes klares Exsudat im Peritonealraum. Duodenalschleimhaut stark hyperämisch. Milz hell, nicht vergrößert, mit einigen fast stecknadelkopfgroßen, gelbweißen Herden. Aus einem Milzherd, Blut und Peritonealflüssigkeit wachsen die Pseudotuberkulosebazillen in Reinkultur. Aus der Duodenalflora gelingt es, den Bazillus ebenfalls herauszuzüchten.

Meerschweinchen Nr. 42. (Brot mit 5 ccm infizierter Bouillon, Tod nach 9½ Wochen.)

Sektionsbefund: Auf der rechten Bauchseite unterhalb der Lebergegend ein ca. pfennigstückgroßer, rundovaler Abszeß unter der Haut. Mäßige Hyperämie im Unterhautzellgewebe, aber keine Hämorrhagien. Milz auf mehr als das Doppelte vergrößert, hellrot gefärbt, mit Tuberkeln in allen Größen völlig durchsetzt; einige davon erreichen Linsengröße. Leber von normaler Färbung, enthält zwei linsengroße, runde, weiße Herde. Gallenblase mit praller Füllung. Nieren leicht vergrößert, desgleichen die fleckig-rötlich verfärbten Nebennieren. Lungen in beiderseitigen Unterlappen pneumonisch infiltriert, mit eingestreuten kleinen, weißen Knötchen. Aus dem Blut werden zwei Agarabstriche gemacht; das eine Röhrchen bleibt steril, auf dem anderen wächst eine einzelne Kolonie, die sich bei weiterer Überimpfung und näherer Untersuchung als Pseudotuberkulosebazillus erweist. Gallenabstrich bleibt steril. Aus dem Hautabszeß und einem großen Milzknoten werden üppige Reinkulturen des Pseudotuberkulosebazillus gezüchtet.

Da nun etwaige Abszeßbildungen an der Impfstelle der vorher erwähnten subkutan injizierten Tiere höchstens noch 14 Tage nach der Impfung bestanden, so konnte wohl auch der genannte Hautabszeß kaum älteren Datums sein. Der Sektionsbefund aber bewies, daß die Pseudotuberkulose dieses Meerschweinchens weit früher begonnen haben mußte, also keineswegs die Folge dieses Abszesses sein konnte. Wahrscheinlich war vielmehr dieser auf Pseudotuberkulosebazillen beruhende Eiterherd in der Haut auf eine zufällige Bißverletzung eines kurz vorher infizierten anderen Meerschweinchens zurückzuführen.

Meerschweinchen Nr. 45. (1 ccm Bouillon mit der Schlundsonde, Tod nach 5 Tagen.)

Sektionsbefund: Reichliche Blutungen unter der Haut. Darm stark hyperämisch. Geringe Flüssigkeitsansammlung im Peritonealraum. Milz aufs Dreifache vergrößert, auffallend brüchig, mit mehreren, kaum stecknadelkopfgroßen Tuberkeln. Leber enthält einige ganz winzige Knötchen. Gallenblase reichlich mit Galle gefüllt. Lunge im linken Unterlappen dunkelrotbraun, von derber Konsistenz; hierin befindlich mehrere weiße Herde von Stecknadelkopfgröße. Aus Blut- und Gallenabstrichen werden Reinkulturen von Pseudotuberkulosebazillen gezüchtet.

Meerschweinchen Nr. 47. (3 ccm mit der Schlundsonde, Tod nach fast 3 Wochen.)

Sektionsbefund: Mäßige Blutungen unter der Haut, Milz vierfach vergrößert, mit scharf umgrenzten, weißen Knoten übersät, die teilweise Linsengröße erreichen. Darmgefäße reichlich injiziert. Gallenblase mit starker Füllung. Sonstige Organe ohne Befund. Aus Herzblut, Galle und Milz werden Reinkulturen des verfütterten Bazillus gewonnen.

Von den elf Versuchstieren zeigten also nicht weniger als acht bei der Sektion pseudotuberkulöse Herde, so daß, wenn man die

beiden allzu früh eingegangenen Tiere Nr. 39 und Nr. 44 in Abzug bringt, lediglich ein einziges Meerschweinchen (Nr. 43) von der Infektion verschont geblieben ist. Die verschieden lange Krankheitsdauer der Schlundsondentiere, genau entsprechend den verschieden großen eingegebenen Bakteriendosen, ferner der Nachweis der Stäbchen im Darm, im Blut und in den Tuberkeln, die sich bei morphologischer und agglutinatorischer Untersuchung als Pseudotuberkulosebazillen erwiesen, und endlich der typische Sektionsbefund bürgen für die Richtigkeit und Verwertbarkeit der Versuchsresultate. Auch bei diesen Tieren war die Milz wieder das am häufigsten und stärksten befallene Organ. Es traten die Nekroseherde auch ebenso rasch auf, als wie bei subkutaner und intraperitonealer Injektion, ja bei einem offenbar besonders empfänglichen Tier (Nr. 45) waren sie am fünften Tage bereits in Milz, Leber und Lunge bis zur Größe eines Stecknadelkopfes vorhanden.

Es war also möglich gewesen, durch einen Infektionsmodus, der dem natürlichen entsprach, bei Meerschweinchen eine pseudotuberkulöse Erkrankung der großen drüsigen Organe hervorzurufen, und somit hatten die wenigen positiven Fütterungsversuche Dieterlens ihre Bestätigung mit einem etwas größeren Tiermaterial gefunden. Im Gegensatz zu den Dieterlenschen Versuchstieren aber war hier die Erkrankung ausnahmslos tödlich verlaufen, und zwar in verschieden langen Zeiträumen von fünf Tagen bis 9½ Wochen.

Es wurde noch die Frage aufgeworfen, ob der zum Vergleich herangezogene Laboratoriumsstamm Paraty B Berlin auch imstande wäre, Pseudotuberkulose zu erzeugen. Acht Meerschweinchen wurden daher mit verschiedenen Quantitäten dieser Bazillen teils subkutan, teils intraperitoneal gespritzt. Zwei mit je ½ Öse behandelte Tiere (Nr. 50 u. 51) gingen nach drei bzw. fünf Tagen ein, zwei weitere (Nr. 52 und 53), denen je $^1/_5$ Öse injiziert war, am sechsten bzw. neunten Tage. Ein fünftes Tier (Nr. 54) erlag auf $^1/_{10}$ Öse hin am zehnten Tage. Die drei letzten Tiere (Nr. 55 mit $^1/_{10}$ Öse, Nr. 56 mit $^1/_{50}$ und Nr. 57 mit $^1/_{100}$ Öse) wurden nach

14 Tagen getötet und boten normalen Befund. Die spontan eingegangenen Tiere zeigten bei der Sektion vergrößerte Milz, geröteten Darm, zum Teil noch einen geringen serofibrinösen Erguß in der Bauchhöhle und stets im Herzblut die verimpften Bazillen in Reinkultur. Von pseudotuberkulösen Herden aber war nicht das geringste zu finden. Demnach würde die Fähigkeit, Pseudotuberkulose zu erzeugen, eine spezifische Eigenschaft nur derjenigen Varietät des Paraty B-Bazillus sein, den wir aus den Herden des ersten Meerschweinchens gewonnen haben.

Von einem Versuch, den aus menschlichen Erkrankungsfällen gezüchteten Paraty B-Stamm durch dauernde Weiterimpfung auf mehrere Generationen von Meerschweinchen an diese Tiere anzupassen und so vielleicht auch mit diesem Stamm Pseudotuberkulose zu erzeugen, mußte leider Abstand genommen werden, da in den letzten Wochen der hier vorliegenden Experimente verschiedentlich derartige Infektionen, auf natürlichem Wege entstanden, bei unseren Meerschweinchen zur Beobachtung kamen.

3. Infektionsversuche an anderen Tierspezies (weifsen Mäusen, Tauben, Kaninchen).

Wegen der außerordentlich hohen Virulenz des Pseudotuberkulosebazillus für Meerschweinchen, die allerdings, wie weiter unten noch ausgeführt wird, in späteren Wochen erheblich nachließ, und der fast regelmäßigen Erzeugung des eigenartigen Krankheitsbildes erschien es nicht uninteressant, über das Verhalten dieses Mikroorganismus gegenüber anderen Tierspezies experimentelle Studien anzustellen.

Zunächst wurden mit weißen Mäusen ausgedehnte Untersuchungen vorgenommen, deren Ergebnisse sich im wesentlichen mit denen bei Meerschweinchen decken, aber doch einige unverkennbare Abweichungen zeigen. Eine schematische Übersicht möge die Verhältnisse bei den teils subkutan, teils intraperitoneal injizierten Mäusen erläutern:

I. Subkutan injizierte Mäuse.

Lfd. Nr.	Dosis	Injektionstag	Todestag	Zeitdauer zwischen Injektions- und Todestag	Bakteriologischer Befund	Ps.-tuberkul. Herde in:
25	$^1/_2$ Öse	29. VIII. 11	29. VIII. 11	einige Std.	Reink. v. Ps.-Tb.-Baz. aus H. Bl.	—
26	$^1/_{100}$ „	30. VIII. 11	4. IX. 11	5 Tage	„	—
27	$^1/_{100}$ „	30. VIII. 11	4. IX. 11	5 „	„	—
28	$^1/_{1000}$ „	30. VIII. 11	8. IX. 11	9 „	„	—
29	$^1/_{1000}$ „	29. IX. 11	4. X. 11	5 „	„	—
30	$^1/_{10\,000}$ „	12. IX. 11	23. IX. 11	11 „	„	—
31	$^1/_{10\,000}$ „	29. IX. 11	3. X. 11	4 „	„	—
32	$^1/_{100\,000}$ „	30. X. 11	9. XI. 11	10 „	„	Leber, Milz
33	$^1/_{100\,000}$ „	16. XI. 11	23. XI. 11	7 „	„	Leber
34	$^1/_{1\,000\,000}$ Öse	16. XI. 11	23. XI. 11	7 „	„	„
35	$^1/_{1\,000\,000}$ „	16. XI. 11	24. XI. 11	8 „	„	Leber, Milz
36	$^1/_{10\,000\,000}$ „	9. XII. 11	16. XII. 11	7 „	„	—
37	$^1/_{10\,000\,000}$ „	9. XII. 11	17. XII. 11	8 „	„	—
38	$^1/_{100\,000\,000}$ „	9. XII. 11	18. XII. 11	9 „	„	Leber
39	$^1/_{100\,000\,000}$ „	9. XII. 11	24. XII. 11	15 „	„	„
40	$^1/_{1\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	22. II. 12 getötet	7 Wochen	Steriles Blut	—
41	$^1/_{1\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	14. III. 12 getötet	10 „	„	—
42	$^1/_{10\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	22. II. 12 getötet	7 „	„	—
43	$^1/_{10\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	14. II. 12 getötet	10 „	„	—

II. Intraperitoneal injizierte Mäuse.

Lfd. Nr.	Dosis	Injektionstag	Todestag	Zeitdauer zwischen Injektons- und Todestag	Bakteriologischer Befund	Ps.-tuberkulöse Herde in:
44	$^1/_2$ Öse	29. III. 12	29. III. 12	einige Std.	Reink. v. Ps.-Tb.-Baz. aus H. Bl.	—
45	$^1/_{100}$ „	30. X. 11	31. X. 11	12 Std.	„	—
46	$^1/_{100}$ „	30. X. 11	31. X. 11	12 „	„	—
47	$^1/_{1000}$ „	29. IX. 11	1. X. 11	2 Tage	„	—
48	$^1/_{1000}$ „	16. XI. 11	24. XI. 11	8 „	„	—
49	$^1/_{10\,000}$ „	29. IX. 11	6. X. 11	7 „	„	—
50	$^1/_{10\,000}$ „	16. XI. 11	20. XI. 11	4 „	„	Leber, Milz
51	$^1/_{100\,000}$ „	30. X. 11	5. XI. 11	6 „	„	Leber

Lfd. Nr.	Dosis	Injektionstag	Todestag	Zeitdauer zwischen Injektions- und Todestag	Bakteriologischer Befund	Ps.-tuberkul. Herde in:
52	$^1/_{100\,000}$ Öse	16. XI. 11	21. XI. 11	5 Tage	Reink. v. Ps.-Tb.-Baz. aus H. Bl.	Leber, Milz
53	$^1/_{1\,000\,000}$ „	16. XI. 11	21. XI. 11	5 „	„	„
54	$^1/_{1\,000\,000}$ „	16. XI. 11	24. XI. 11	8 „	„	Leber
55	$^1/_{10\,000\,000}$ „	9. XII. 11	14. XII. 11	5 „	„	„
56	$^1/_{10\,000\,000}$ „	9. XII. 11	14. XII. 11	5 „	„	„
57	$^1/_{100\,000\,000}$ „	9. XII. 11	14. XII. 11	5 „	„	„
58	$^1/_{100\,000\,000}$ „	9. XII. 11	12. XII. 11	3 „	Mischinfektion	—
59	$^1/_{1000\,000\,000}$ „	4. I. 12	22. II. 12 getötet	7 Wochen	Steriles Blut	—
60	$^1/_{1000\,000\,000}$ „	4. I. 12	14. III. 12 getötet	10 „	„	—
61	$^1/_{10\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	22. II. 12 getötet	7 „	„	—
62	$^1/_{10\,000\,000\,000}$ „	4. I. 12	14. III. 12 getötet	10 „	„	—

Pathogenität und Fähigkeit, Pseudotuberkel zu bilden, waren demnach für Mäuse genau so wie für Meerschweinchen vorhanden. Was aber als abweichend besonders auffällt, ist die Tatsache, daß die Prädilektionsstelle der Knötchen hier offenbar die Leber ist. Sämtliche 15 Tiere mit positivem Befund zeigten Herde in der Leber und nur fünf von diesen auch noch außerdem in der Milz. In den fünf letztgenannten Fällen waren die Leberpseudotuberkel zudem meist auch größer und weiter vorgeschritten als die Milzknötchen. Lungen und Nieren waren bei keinem Tier affiziert. Ein weiterer Unterschied lag in der verschiedenen Krankheitsdauer. Während einzelne Meerschweinchen noch wochenlang nach der Einspritzung lebten und sich anscheinend ziemlich wohl fühlten, machten sich bei den Mäusen durchweg schon nach wenigen Tagen Krankheitssymptome bemerkbar, die stets recht bald zum Exitus führten. Länger als elf Tage vermochte nicht ein einziges der Tiere zu leben, so daß man hier kaum von einer schleichend verlaufenden Infektionskrankheit wie bei Meerschweinchen sondern vielmehr von einer subakuten Sepsis sprechen kann. Da im übrigen die Sektionsbefunde im großen und ganzen mit

denen bei Meerschweinchen übereinstimmten, so erübrigt es sich hier wohl, die Berichte der Mäusesektionen im einzelnen wiederzugeben. Von einem gewissen abweichenden Bau der Leberherde gegenüber den Meerschweinchentuberkeln wird weiter unten die Rede sein.

Auch an Tauben wurden einige Infektionsversuche ausgeführt. Gerade für diese Tiere sollen nach einigen Literaturangaben verschiedene Paraty B-Stämme oft ganz konträre Virulenzverhältnisse bekunden. Vagedes[23]) stellte beispielsweise eine abnorm große Pathogenität seines Bacillus Paratyphi B für Tauben fest, während Fränkel und Much[20]) ihren Parastamm als nahezu avirulent für diese Tiere bezeichneten. Intramuskuläre Injektionen des Pseudotuberkulosebazillus hatten bei Tauben folgendes Ergebnis:

Intramuskuläre Injektionen bei Tauben.

Lfd. Nr.	Dosis	Injektionstag	Todestag	Zeitdauer zwischen Injektions- und Todestag	Pseudotuberkulöse Herde in:	Bakteriologischer Befund
1	1 Öse	9. XII. 11	23. XII. 11	14 Tage	Leber	Spärliche Kolonien aus Herzblut. Starkes Wachstum aus der Impfstelle
2	$^1/_2$ Öse	9. XII. 11	15. XII. 11	6 Tage	—	do.
3	$^1/_{10}$ Öse	9. XII. 11	11. XII. 11	2 Tage	—	do.
4	$^1/_{10}$ Öse	16. XI. 11	14. II. 12 getötet	13 Wochen	—	Steriles Blut, Impfstelle o. Bf.
5	$^1/_{100}$ Öse	16. XI. 11	18. XI. 11	2 Tage	—	Einzelne Kolonien a. H. Bl.
6	$^1/_{1000}$ Öse	19. X. 11	20. X. 11	24 Std.	—	Mischinfekt.
7	$^1/_{10\,000}$ Öse	19. X. 11	14. XII. 11 getötet	8 Wochen	—	H. Blut u. Impfstelle steril.
8	$^1/_{10\,000}$ Öse	19. X. 11	14. XII. 11 getötet	8 Wochen	—	do.

So bewies also der Pseudotuberkulosebazillus, soweit sich aus dem wenigen Versuchsmaterial ersehen läßt, eine relativ geringe Virulenz für Tauben. Eine mit einer ganzen Öse behandelte Taube (Nr. 1) ging erst nach 14 Tagen ein, eine mit $^1/_{10}$ Öse gespritzte blieb völlig gesund. Daß die Tauben Nr. 2, 3 und 5 schon

nach wenigen Tagen zugrunde gingen, war vielleicht auf die starke Reaktion an der Impfstelle zurückzuführen. Hier fand sich nämlich bei allen eingegangenen Tauben eine deutlich abgrenzbare Vorwölbung unter der Haut von ca. Taubeneigröße. Beim Einschneiden zeigte sich eine rötlichgrauliche Verfärbung der Muskulatur mit feiner gelber Sprenkelung. Die mikroskopischen Schnitte hiervon lassen eine stark fettig degenerierte Muskulatur mit einer Unzahl eingelagerter Bazillen erkennen. Diese liegen teils in dichten Haufen beisammen, teils sind sie in langen Reihen längs der Septen angeordnet. Nur in einem Falle (Nr. 1) wurden zackrandige, grauweiße Herde von Hirsekorngröße in der Leber gefunden.

Endlich sei noch erwähnt, daß auch bei Kaninchen das gleiche Krankheitsbild sich erzeugen ließ. Zwei derartige Tiere, die bei einer versuchten Pseudotuberkuloseserumgewinnung eingingen, zeigten bei der Sektion mehrere unregelmäßig umrandete Leberherde von ca. Hanfkorngröße, ganz ähnlich wie sie bei weißen Mäusen so häufig beobachtet wurden. In der stark vergrößerten Milz waren in beiden Fällen einige runde, prominente, hirsekorngroße Pseudotuberkel vorhanden.

So waren also außer Meerschweinchen auch weiße Mäuse, Kaninchen und Tauben für die Pseudotuberkulose empfänglich, letztere allerdings nur zum Teil und bei Verimpfung sehr starker Dosen.

4. Versuche einer Toxingewinnung.

Sollte es nun nicht etwa möglich sein, von diesem Pseudotuberkulosebazillus, der sich als so außerordentlich virulent für Meerschweinchen erwiesen hatte, ein wirksames Toxin zu gewinnen? Zwar ist ja bisher für Paraty B ein derartiges Gift noch nicht sicher erwiesen, wenn auch in den letzten Jahren mehrfach die Bildungsmöglichkeit gewisser Toxine vertreten wurde.

So gelang es Vagedes[23]), durch subkutane Injektion von Paraty-Kulturen, die im strömenden Wasserdampf abgetötet worden waren, tödliche Giftwirkung bei Meerschweinchen zu erzielen; der Sektionsbefund war dabei der gleiche wie bei Verimpfung

lebender Bakterien. Kutscher[24]) und Rolly[25]) hatten ähnliche Resultate mit Paraty-Bouillonkulturen, die durch längere Erhitzung keimfrei gemacht worden waren. Aus diesen Untersuchungen geht aber, wie Kutscher selbst betont, hervor, daß die fraglichen Giftstoffe der Paraty-Bazillen keineswegs echte Toxine sein können, wie beispielsweise Diphtherie- oder Tetanustoxin, welche niemals eine Erhitzung auf 100° ohne Schaden ertragen. So können, sagt Kutscher, hier nur die sogenannten Endotoxine in Frage kommen, welche infolge massenhafter Autolyse von Bakterien gelegentlich in älteren flüssigen Kulturen vorhanden sind.

Uhlenhuth[26]) wählte einen anderen Weg, indem er 14 Tage alte Bouillonkulturen filtrierte. In diesem sterilen Filtrat wies er für Mäuse und Meerschweinchen toxisch wirkende Stoffe nach, welche die damit verimpften Tiere schon nach 12 bis 18 Stunden unter einem schweren Krankheitsbild eingehen ließen. In ganz ähnlicher Weise berichten Kraus und v. Stenitzer[27]), ferner Yamanouchi[28]) und einige andere Autoren in den letzten Jahren über positive Versuchsresultate, ohne daß es bisher gelungen wäre, die Endotoxinfrage bei Paraty B-Bazillen zur definitiven Lösung zu bringen. Dessenungeachtet wurde der Pseudotuberkulosebazillus einer Untersuchung auf etwaige Giftproduktion hin unterworfen.

Es wurde zu diesem Zweck am 4. XII. 11 eine Öse einer 24stündigen Pseudotuberkulosekultur in 1 l steriler Bouillon verrieben und diese dann sieben Tage lang im Brutschrank bei 37° belassen. Am 11. XII. wurden von dieser Bouillon, in der die Bakterien starke Trübung und reichliche Bodensatzbildung verursacht hatten, ca. 50 ccm durch ein Berkefeldfilter hindurchgegeben und von dem steril aufgefangenen Filtrat drei Agarabstriche angelegt. Da sämtliche drei Röhrchen steril blieben, wurden an den drei folgenden Tagen im ganzen acht Meerschweinchen und vier weiße Mäuse mit verschiedenen Dosen subkutan und intraperitoneal behandelt. Eine kurze Übersichtstabelle möge Versuchsanordnung und Resultate erläutern.

I. Nach 7 Tagen.

Lfd. Nr.	Tierspezies	Dosis	Injektionsmodus	Injektionstag	Todestag	Bakteriologischer Befund
50	Meerschwein	10 ccm	subkutan	12. XII. 11	13. XII. 11	Steriles Blut
51	,,	10 ,,	intrap.	,,	,,	,,
52	,,	5 ,,	subkutan	,,	,,	,,
53	,,	5 ,,	intrap.	,,	,,	,,
54	,,	$2^1/_2$,,	subkutan	13. XII. 11	am 3. I. 12 getötet	,,
55	,,	$2^1/_2$,,	intrap.	,,		,,
56	,,	1 ,,	subkutan	,,		,,
57	,,	1 ,,	intrap.	,,		,,
1	Maus	2 ,,	subkutan	14. XII. 11	3. I. 12 getötet	,,
2	,,	2 ,,	intrap.	,,	15. XII. 11	,,
3	,,	1 ,,	subkutan	,,	13. I. 12 getötet	,,
4	,,	1 ,,	intrap.	,,	,,	,,

Eine gewisse Toxizität war also dem klaren Filtrat nicht abzusprechen; Meerschweinchen erlagen innerhalb 24 Stunden einer subkutanen oder intraperitonealen Injektion von 5 ccm, Mäuse einer solchen von 2 ccm. Die Sektion ergab fast durchweg ausgesprochene Hyperämie des Unterhautzellgewebes mit reichlichen Blutungen, ferner einen mehr oder minder starken serösen oder serofibrinösen Erguß in der Bauchhöhle und endlich eine bereits leicht geschwollene Milz. Die entnommenen Abstriche aus dem Herzblut und der Bauchhöhle blieben sämtlich steril. Die Tiere, die mit geringeren Dosen behandelt worden waren, blieben aber am Leben und gaben, als sie nach 14 Tagen getötet wurden, völlig negativen Befund. Es trat also eine gewisse toxische Wirkung nur dann ein, wenn ganz große Dosen Bouillonfiltrats injiziert wurden, weit größere Mengen, als dies bei echten Toxinen nötig ist.

Nach weiteren sieben Tagen wurden von neuem 50 ccm der Bouillonkultur filtriert und die Versuche in gleicher Weise wiederholt, um nachzuprüfen, ob die Giftigkeit inzwischen etwa zu- oder abgenommen hätte. Die Resultate ergeben sich aus folgender Tabelle:

II. Nach 14 Tagen.

Lfd. Nr.	Tierspezies	Dosis	Injektionsmodus	Injektionstag	Todestag	Bakteriologischer Befund
58	Meerschwein	5 ccm	subkutan	19. XII. 11	20. XII. 11	Steriles Blut
59	,,	5 ,,	intrap.	,,	,,	,,
60	,,	2½ ,,	subkutan	,,	am 17. I. 12 getötet	,,
61	,,	2½ ,,	intrap.	,,	,,	,,
62	,,	1 ,,	subkutan	,,	,,	,,
63	,,	1 ,,	intrap.	,,	,,	,,
5	Maus	2 ,,	subkutan	,,	20. XII. 11	,,
6	,,	2 ,,	intrap.	,,	,,	,,
7	,,	1 ,,	subkutan	,,	,,	,,
8	,,	1 ,,	intrap.	,,	21. XII. 11	,,

Die Toxizität blieb demnach für Meerschweinchen die gleiche und nahm auch für Mäuse nur in geringem Grade zu.

Am 2. Januar 1912 wurde von der nunmehr vierwöchentlichen Kolbenkultur nochmals ein Berkefeldfiltrat angefertigt. Da das Filtrat sich auf Agarabstrichen wiederum als steril erwies, wurden am nächsten Tage damit je sechs Mäuse und Meerschweinchen behandelt, um noch einmal auf eine eventuelle Änderung des Giftigkeitsgehalts zu prüfen. Die Toxizität hatte jedoch für beide Tierspezies im wesentlichen auch jetzt noch keine Steigerung erfahren, wie die Tabelle III beweist.

So vermochten also nach wie vor nur relativ sehr große Dosen letale Wirkungen zu erzielen. Von einem echten Toxin konnte also kaum die Rede sein. Ob aber nicht geringe Mengen von Endotoxinen vorlagen, zu deren Gewinnung feinere Methoden notwendig sind, mag dahingestellt bleiben. Jedenfalls war es gelungen, mit hohen Dosen sterilen Bouillonkulturfiltrats Meerschweinchen und Mäuse innerhalb der ersten 48 Stunden sicher zu töten.

Als Mitte Juni 1912 noch einmal von der nunmehr halbjährigen Bouillonkultur ein keimfreies Filtrat hergestellt wurde, erwies sich die Giftwirkung als unverändert und keinesfalls gesteigert. Von sechs mit diesem Bouillonsubstrat gespritzten Mäusen (Nr. 15—20) ging die erste (1,5 ccm subkutan) innerhalb

III. Nach 4 Wochen.

Lfd. Nr.	Tierspezies	Dosis	Injektionsmodus	Injektionstag	Todestag	Bakteriologischer Befund
64	Meerschwein	5 ccm	subkutan	3. I. 12	4. I. 12	Steriles Blut
65	,,	5 ,,	intrap.	,,	,,	,,
66	,,	2½ ,,	subkutan	,,	am 1. II. 12 getötet	,,
67	,,	2½ ,,	intrap.	,,	4. I. 12	,,
68	,,	1 ,,	subkutan	,,	am 1. II. 12 getötet	,,
69	,,	1 ,,	intrap.	,,	,,	,,
9	Maus	1 ,,	subkutan	,,	5. I. 12	,,
10	,,	1 ,,	intrap.	,,	4. I. 12	,,
11	,,	½ ,,	subkutan	,,	5. I. 12	,,
12	,,	½ ,,	intrap.	,,	am 14. II. 12 getötet	,,
13	,,	¼ ,,	subkutan	,,	,,	,,
14	,,	¼ ,,	intrap.	,,	am 17. II. 12 getötet	,,

24 Stunden, drei weitere (1,5 ccm und 1,0 ccm intraperitoneal und 1,0 subkutan) nach 48 Stunden ein, während die beiden letzten, denen nur 0,5 ccm subkutan bzw. intraperitoneal verabreicht war, am Leben blieben und sich anscheinend völlig wohl fühlten.

Da nun die Paraty-Gifte zum größten Teil hitzebeständig sind, wurde auch dieses keimfreie Pseudotuberkulosefiltrat daraufhin untersucht. Es wurde fünf Minuten lang in kochendes Wasser gestellt und nach dem Erkalten in denselben Quantitäten wie den sechs letztgenannten Mäusen, also 1,5, 1,0 und 0,5 ccm, subkutan und intraperitoneal sechs weiteren Mäusen (Nr. 21—26) injiziert. Sämtliche Tiere blieben von Krankheitssymptomen gänzlich verschont und gaben, als sie zehn Tage später getötet wurden, vollkommen negativen Befund. Die fraglichen Giftstoffe waren also durch fünf Minuten langes Belassen bei 100° C vernichtet worden.

Noch ein zweiter Weg zur Gewinnung toxisch wirkender Substanzen aus dem Pseudotuberkulosebazillus wurde eingeschlagen. Es wurden 24stündige Pseudotuberkulosekulturen zweier Kolleschen Schalen mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sorgfältig verrieben. Die so erhaltene dicke Emul-

sion wurde 24 Stunden im Schüttelapparat kräftig geschüttelt, dann mit 0,1 ccm Chloroform zur Abtötung der jetzt noch lebenden Bakterien versetzt und nach Verdunsten des Chloroforms zentrifugiert. Da sich das ganze klare Zentrifugat als steril erwies, wurde es am 24. VI. 1912 wiederum in Mengen von 1,5, 1,0 und 0,5 ccm drei weißen Mäusen (Nr. 27—29) unter die Haut gespritzt. Die beiden ersten Tiere gingen bereits am nächsten und das dritte am übernächsten Tage ein. Daher wurden zwei weitere Mäuse am 26. VI. mit 0,25 und 0,1 ccm ebenfalls subkutan injiziert (Nr. 30 und 31). Beide Tiere gingen nach vier Tagen ein. Alle fünf Mäuse machten schon bald nach der Injektion einen schwerkranken Eindruck und zeigten konstant eine merkwürdige Parese der hinteren Extremitäten, die derart ausgesprochen war, daß den Tieren jegliche Vorwärtsbewegung unmöglich war. Da diese eigenartige Erscheinung bei den bisherigen Tieren niemals beobachtet war, wurde aus Vergleichsgründen derselbe Versuch mit dem Paraty-Stamm des Laboratoriums angestellt. Es wurde in ganz gleicher Weise vorgegangen, und auch dieselben Quantitäten wie vorher wurden den fünf Versuchstieren (Nr. 32—36) eingespritzt. Diese gingen sämtlich innerhalb 24 Stunden unter heftigen Krankheitssymptomen ein, doch von einer Lähmung der Hinterbeine war nichts zu sehen.

Am 3. 7. wurden beide Versuche wiederholt. Die Resultate waren noch frappanter, wie folgende Zusammenstellung beweist.

I. Maus	Nr. 37	—	Injektion	am	3. VII.	—	1,5 ccm	Ps.-Tb.-Gift	eingeg.	innerh.	24 Std.
»	» 38	—	»	»	3. VII.	—	1,0 »	»	»	»	24 »
»	» 39	—	»	»	3. VII.	—	0,5 »	»	»	»	24 »
»	» 40	—	»	»	3. VII.	—	0,25 »	»	»	»	24 »
»	» 41	—	»	»	3. VII.	—	0,1 »	»	»	»	24 »
»	» 42	—	»	»	4. VII.	—	0,05 »	»	»	»	48 »
»	» 43	—	»	»	4. VII.	—	0,01 »	»		lebt.	
II. Maus	Nr. 44	—	Injektion	am	4. VII.	—	1,5 ccm	Paraty.-Gift	eingeg.	innerh.	24 Std.
»	» 45	—	»	»	4. VII.	—	1,0 »	»	»	»	24 »
»	» 46	—	»	»	4. VII.	—	0,5 »	»	»	»	24 »
»	» 47	—	»	»	4. VII.	—	0,25 »	»	»	»	24 »
»	» 48	—	»	»	4. VII.	—	0,1 »	»	»	»	24 »
»	» 49	—	»	»	4. VII.	—	0,05 »	»	»	»	24 »
»	» 50	—	»	»	4. VII.	—	0,01 »	»		lebt.	

Das giftige Substrat beider Bakterienstämme hatte also ungefähr gleichstarke Wirkung bekundet. Noch 0,05 ccm dieser Flüssigkeit vermochten bei subkutaner Injektion weiße Mäuse zu töten. Doch zeigten auch hier wieder die Pseudotuberkulosegiftmäuse die genannte Parese der hinteren Extremitäten in mehr oder minder ausgesprochener Stärke, bei den Paraty-Gifttieren wurde dieses merkwürdige Symptom vermißt.

Ob diese Erscheinung als Ausdruck eines das Rückenmark angreifenden Neurotoxins anzusehen ist, läßt sich einstweilen nicht feststellen; die Beantwortung dieser Frage würde über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinausgehen.

Somit war es gelungen, aus den Pseudotuberkulosebazillen toxisch recht wirksame Stoffe zu extrahieren, welche schon in geringen Quantitäten die damit gespritzten Mäuse prompt töteten; die Abstriche aus dem Herzblut dieser Tiere blieben natürlich steril. Daß bei den erstmaligen Versuchen die gewonnene Flüssigkeit sich als minder giftig erwies als bei der Wiederholung, mag wohl auf das nicht stets gleichstarke Wachstum der Bakterien in den Kolleschen Schalen zurückzuführen sein. Die rapide Giftwirkung aber war trotz dieser geringen Differenz unzweifelhaft.

Die später zu erwähnende Tatsache, daß innerhalb der Herde die Erythrozyten stets so rasch verschwinden, gab noch zu einer Untersuchung auf etwaige Paratypholysine Veranlassung. Von dem beschriebenen sterilen Filtrat alter Bouillonkulturen wurden wiederholt zu diesem Zwecke verschiedene Mengen in der üblichen Weise mit Hammelblut und Kochsalzlösung zusammengegeben, jedoch trat niemals eine auch noch so geringe Lösung der Blutkörperchen ein.

5. Versuche einer Serumgewinnung.

War es nun möglich, gegen diese virulenten Bakterien entgiftende Schutzstoffe zu gewinnen? Bildete der Tierkörper Immunstoffe gegen diese Mikroorganismen, ließ sich durch Injektion steigender Bakteriendosen bei Kaninchen ein wirksames Serum erhalten? Man dachte dabei speziell an eine Bakteriolysinbildung, die ja bekanntlich beim Typhusbazillus und seinen Verwandten

so leicht zu erreichen ist. So lag es nahe, mit dem Pseudotuberkulosebazillus die Erzeugung bakeriolytischen Serums zu versuchen, um so mehr, als man damit die schon vorher ausgeführte Komplementbindungsmethode mit noch glücklicherem Resultat anstellen zu können hoffte.

Am 5. XII. 1911 wurde begonnen, vier Kaninchen allwöchentlich langsam steigende Dosen von virulenten Pseudotuberkulosebazillen, aus 24 stündigen Kulturen stammend, subkutan zu injizieren. Die Anfangsdosis betrug $^1/_{1\,000\,000}$ Öse, die in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben war. Leider ging eines der vier Kaninchen bereits nach 14 Tagen ein; die Sektion zeigte die bereits vorher erwähnten pseudotuberkulösen Herde in Leber und Milz.

Die übrigen Tiere wurden im Laufe der Zeit mit je $^1/_{100\,000}$, $^1/_{10\,000}$, $^1/_{1000}$, $^1/_{100}$, $^1/_{50}$, $^1/_{10}$, $^1/_2$ und schließlich einer ganzen Bazillenöse in achttägigen Intervallen weiter behandelt. Am 1. Februar 1912 ließ man eines der Tiere, das damals einzugehen drohte, aus der Karotis verbluten. Die Sektion ergab dabei einen ganz ähnlichen positiven Befund in Milz und Leber wie bei dem ersten eingegangenen Kaninchen. Aus dem aufgefangenen Blut wurde ein Serum gewonnen, das nun auf zweierlei Weise einer Prüfung auf etwaige bakteriolytische Kraft unterworfen wurde. Zunächst wurde ein Reagenzglasversuch damit angestellt. Es wurde eine ganze Agarkultur in 4 ccm physiologischer NaCl-Lösung verrieben und dazu eine gleiche Menge unverdünnten Serums gebracht. Sofort danach wurde von diesem Gemisch ein Agarabstrich gemacht und 5, 10, 30 und 60 Minuten später und von da ab 10 Stunden lang alle 2 Stunden je ein neuer Abstrich. Man hoffte, daß die Anzahl der Kolonien auf den einzelnen Nährböden erheblich an Zahl abnehmen würde, je länger eben das angeblich lytisch wirkende Serum auf die Bakterienleiber einwirkte. Statt dessen aber wuchs in sämtlichen Röhrchen ein gleichmäßiger, dicker Bazillenrasen. Es konnte aber dieses negative Resultat noch dadurch vorgetäuscht sein, daß von vornherein eine viel zu große Zahl von Mikroorganismen in das entsprechende Serum hineingebracht worden war. Der Versuch wurde daher in der Weise erneuert, daß lediglich eine Öse in 4 ccm verrieben und eine gleiche Serum-

menge zugesetzt wurde, — doch auch hier derselbe negative Erfolg.

Einen zweiten Weg, der noch ein Vorhandensein von Bakteriolysinen hätte beweisen können, bot der Pfeiffersche Versuch. Die innerhalb 24 Stunden absolut tödliche Dosis betrug damals bei intraperitonealer Injektion $^1/_{100}$ Öse. Diese Dosis hätte also für sich allein bzw. mit normalem Kaninchenserum ein Meerschweinchen in 24 Stunden zu töten vermocht, das bakteriolytische Serum dagegen, mit der gleichen Bazillenmenge zusammengebracht, das Tier vor dem Exitus bewahren müssen. Man wählte vier verschiedene Serumdosen auf die gleiche Bakterienquantität und gab zwei Kontrolltieren $^1/_{100}$ bzw. $^1/_{200}$ Öse mit normalem Kaninchenserum. Die Versuchsanordnung war also folgende:

Meerschweinchen Nr. 70. $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal + 1 ccm normalen Kaninchenserums.

Meerschweinchen Nr. 71. $^1/_{200}$ Öse intraperitoneal + 1 ccm normalen Kaninchenserums.

Meerschweinchen Nr. 72. $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal + 2,0 ccm bakteriolytischen Kaninchenserums.

Meerschweinchen Nr. 73. $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal + 1,0 ccm bakteriolytischen Serums.

Meerschweinchen Nr. 74. $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal + 0,5 ccm bakteriolytischen Serums.

Meerschweinchen Nr. 75. $^1/_{100}$ Öse intraperitoneal + 0,25 ccm bakteriolytischen Serums.

Sämtliche Tiere gingen innerhalb 24 Stunden ein. Von irgendeiner bakteriolytischen Wirkung des Kaninchenserums war also nichts zu merken. Die in verschiedenen Zeiträumen nach der Einspritzung aus der Peritonealhöhle der infizierten Tiere entnommenen Proben hatten unter dem Mikroskop bei stärkster Vergrößerung niemals Quellungs- oder Lösungserscheinungen bei den Bakterien erkennen lassen. Die zwei noch restierenden, zur Immunisierung benutzten Kaninchen wurden daher mit steigenden Dosen subkutan weiter behandelt, und zwar mit je 1 Öse, dann der Reihe nach mit 2 Ösen, ½ Agarkultur, einer ganzen Agarkultur, 2, 3, 5, 10 Kulturen, mit einer und zuletzt zwei Kolleschen Schalen. Am 17. April wurde einem der beiden Tiere Blut entnommen, um damit die zwei schon vorher angegebenen Versuche nochmals anzustellen. Auch diesmal fiel der Reagenzglasversuch wieder völlig negativ aus. Desgleichen führte der Pfeiffersche Versuch zu keinem Resultat. Die dazu verwandten Meerschweinchen hatten eine stärkere Bakteriendosis, nämlich $^1/_{10}$ Öse, erhalten, da der Bazillus an seiner Virulenz eine starke Einbuße im Laufe der Zeit erlitten hatte, wie ein vorher ausgeführter Vorversuch mit drei Meerschweinchen (Nr. 76, 77 und 78) festgestellt

hatte. Es zeigte sich aber, daß auch diese Dosis noch zu niedrig gegriffen war, denn sämtliche sechs Tiere (Nr. 79 bis 85) gingen erst in 3 bis 4 Tagen ein, und zwar sowohl Kontrolltiere als auch Versuchstiere. Auch dieses Serum hatte also keine bakterienauflösende Kraft offenbart.

Inzwischen war das letzte der Kaninchen noch zweimal mit je zwei Kolleschen Schalen gespritzt worden. Da sein Zustand bedenklich zu werden begann, ließ man es Anfang Mai verbluten, wobei eine reichliche Menge Serum gewonnen wurde. Hiermit wurden die sämtlichen früheren Versuche nun wiederholt. Beim Reagenzglasversuch wurde wiederum eine Öse auf 4 ccm NaCl-Lösung verrieben und mit gleicher Serumquantität zusammengebracht. Es wurden genau so wie bei den vorherigen Versuchen zunächst alle paar Minuten, dann zweistündlich Agarabstriche angefertigt. Tatsächlich nahm die Zahl der in 24 Stunden gewachsenen Kolonien auch in der bestimmten Reihenfolge ab, aber keineswegs derart erheblich, wie dies bei bakteriolytisch wirkendem Serum der Fall zu sein pflegt.

Für die Ausführung des Pfeifferschen Versuches erwies sich eine erneute Feststellung der in 24 Stunden absolut tödlichen Dosis als notwendig. Zwei Meerschweinchen (Nr. 86 und 87) wurde eine ganze bzw. $^1/_{10}$ Öse intraperitoneal eingespritzt. Da beide am Leben blieben, wurde der Pseudotuberkulosebazillus durch zehn Mäusekörper (Nr. 51—60) hindurchgeschickt, um dadurch die Virulenz künstlich zu erhöhen. Drei neue Versuche mit Meerschweinchen, von denen das erste (Nr. 88) mit $^1/_{10}$ Öse, das zweite (Nr. 89) mit ½ Öse, das dritte (Nr. 90) mit einer ganzen Öse behandelt wurde, hatten nun besseren Erfolg; das letzte Tier mit der stärksten Dosis ging innerhalb 24 Stunden ein, die beiden anderen nach 2—3 Tagen. Die eigentliche Versuchsanordnung war nun folgende:

Meerschweinchen Nr. 91. $^1/_1$ Öse intraperitoneal + 1 ccm normalen Kaninchenserums.

Meerschweinchen Nr. 92: ½ Öse intraperitoneal + 1 ccm normalen Kaninchenserums.

Meerschweinchen Nr. 93: Eine Öse intraperitoneal + 2,0 ccm bakteriolytischen Kaninchenserums.

Meerschweinchen Nr. 94: Eine Öse intraperitoneal + 1 ccm bakteriolytischen Serums.

Meerschweinchen Nr. 95: Eine Öse intraperitoneal + 0,5 ccm bakteriolytischen Serums.

Meerschweinchen Nr. 96: Eine Öse intraperitoneal + 0,25 ccm bakteriolytischen Serums.

Die Meerschweinchen Nr. 91, 92, 93 und 96 gingen im Laufe des folgenden Tages ein, also nicht allein die Kontrolltiere, sondern auch zwei der mit dem angeblich lytisch wirkenden Serum gespritzten Tiere. Wenn auch die beiden restierenden Meerschweinchen Nr. 94 und 95 noch einige Tage am Leben blieben, so hatte doch immerhin die bakterienauflösende Wirkung gerade bei demjenigen Tiere völlig versagt, das die größte Serumdosis bekommen hatte. Abstriche aus dem Herzblut und dem Peritonealinhalt dieses Tieres ergaben den verimpften Bazillus in üppiger Reinkultur; den gleichen bakteriologischen Befund ergaben die anderen eingegangenen Serumtiere (Nr. 94—96).

Trotz dieses negativen Resultates — auch diesmal war die mikroskopische Untersuchung der Peritonealflüssigkeit negativ ausgefallen — wurde noch einmal die Komplementbindungsmethode ausgeführt. Die Bazillenemulsion wurde in gleicher Weise wie früher hergestellt, sterilisiert und drei Tage aufbewahrt. Eine erneute Auswertung der Bazillen ergab, daß sie diesmal in einer Verdünnung von 1:100 verwendbar waren, in stärkerer Konzentration aber Selbsthemmung gaben. Zu 1 ccm der daher auf 1:100 verdünnten Bakterienemulsion wurde 1 ccm unverdünntes Serum und in einer zweiten Versuchsreihe 1 ccm zehnfach verdünnten Serums gegeben. Nach Zufügung des Komplements wurden die Röhrchen für eine Stunde in den Brutschrank gebracht. Alsdann wurde das hämolytische System zugesetzt, das Ganze nochmals eine Stunde bei 37° belassen und dann nachgesehen: sämtliche Röhrchen zeigten komplette Hämolyse, der Versuch war also vollständig negativ ausgefallen.

Nach alledem konnte von einer bakteriolytischen Wirkung des gewonnenen Serums gar keine Rede sein. Dieses besaß lediglich eine ganz geringe Agglutinationsfähigkeit, deren Titer für Pseudotuberkulosebazillen auf 1:300 festgestellt wurde. Im einzelnen fielen die Agglutinationsversuche mit diesem Serum in folgender Weise aus:

Serum	Bakterienart	Agglutination vorhanden bis zur Verdünnung:
Ps.-Tb.-Ser.	+ Ps.-Tb.-Baz.	1 : 300
„	+ Paraty-B-Baz.	1 : 300
„	+ M.-ty-Baz.	1 : 300
„	+ Gärtner-Baz.	1 : 200
„	+ Ty-Baz.	1 : 50
„	+ Para-A-Baz.	1 : 200

Demnach ist mir bei drei Kaninchen, von denen zwei sehr beträchtliche Dosen von Bakterien vertragen hatten, die Erzeugung von Ambozeptoren nicht geglückt.

Daß es dagegen eine sehr einfache und leichte Sache ist, Agglutinine in stärkerer Konzentration im Serum eines vorbehandelten Tieres anzuhäufen, auch mit Pseudotuberkulosebazillen, mag der folgende Agglutinationsversuch mit dem Serum eines auf besondere Weise mit Pseudotuberkulosebazillen vorbehandelten Kaninchens erweisen:

Bakterienart	Agglutination noch vorhanden bis zur Verdünnung von:
Ps.-Tb.-Baz.	1 : 7500
Para-B-Baz.	1 : 5000
M.-ty-Baz.	1 : 5000
Ty-Baz.	1 : 300
Gärtner-Baz.	1 : 200
Para-A-Baz.	1 : 750

Dieser Titer von 1 : 7500 war bei dem Kaninchen nach ca. vierwöchentlicher Vorbehandlung erreicht worden. Aber auch in diesem Serum ließen sich Ambozeptoren nicht auffinden, was allerdings nach der Art der Vorbehandlung auch nicht erwartet wurde.

Ob nun bei der mißlungenen Bakteriolysingewinnung die Schuld auf seiten der benutzten Kaninchen bzw. an der zu geringen Anzahl von Tieren gelegen hat, oder auf etwaige Fehler in der Technik zurückzuführen ist, vor allem auf die Außerachtlassung der Virulenzverminderung bei den Kulturen, oder ob der Pseudo-

tuberkulosebazillus im Gegensatz zum Paraty B-Bacillus zur Bakteriolysingewinnung tatsächlich ungeeignet ist, entzieht sich der Beurteilung. Jedenfalls gelang es trotz erdenklicher Mühe nicht, ein bakteriolytisches Serum zu erzeugen, eine immerhin recht auffallende Tatsache, da, wie wir schon zum Eingang dieses Abschnittes erwähnt haben, im allgemeinen keine Schwierigkeit besteht, bei der Paraty-Gruppe solche Antikörper zu erhalten.

6. Histologische Studien.

Ist man nun berechtigt, den bei dem ersten spontan eingegangenen Meerschweinchen beobachteten Sektionsbefund sowie die später experimentell erzeugten Erkrankungen als Pseudotuberkulose im Sinne E b e r t h s zu deuten?

Im Virchow-Archiv Bd. 100 beschreibt E b e r t h ein durch Mikrokokken erzeugtes Krankheitsbild, für das er die Bezeichnung „Pseudotuberkulose" einführt, und äußert sich über die in Milz, Leber und Lunge gefundenen Veränderungen wie folgt: „In der Milz kommen submiliare und miliare, graugelbe und gelbe, käsige Einlagerungen vor. In der Leber bilden die ältesten Herde entweder hirse- oder hanfkorngroße, rundliche und unregelmäßige käsige Einlagerungen, die häufig von einem Bindegewebssaum, der strahlige Fortsätze in die Umgebung sendet, eingefaßt werden. Daneben finden sich dann miliare bis erbsengroße, scharf umschriebene, mit einem flüssigen, schleimigen, graugelben Inhalt gefüllte Höhlen. Sie machen ganz den Eindruck kleiner Abszesse. Die scheinbar jüngsten Erkrankungen endlich stellen kleine, graue, punktförmige, leicht prominierende Einlagerungen dar. Die in den Lungen gefundenen Veränderungen waren auf die unteren Lappen beschränkt und bestanden in meist submiliaren, graugelben, isolierten und aggregierten Knötchen und einer grauroten Hepatisation ihrer Umgebung."

In der Tat stimmen mit dieser E b e r t h schen Beschreibung die im vorliegenden Falle gefundenen pathologischen Erscheinungen im wesentlichen überein. Was zunächst die Milz anbelangt, so kommt auch hier die Krankheit in den meisten Fällen in Form „von submiliaren und miliaren, graugelben und gelben, käsigen

Einlagerungen“ in dem mehr oder weniger stark vergrößerten Organ zur Beobachtung. Häufig treten aber auch, besonders bei Meerschweinchen, bei denen im Gegensatz zu anderen Versuchstieren die Milz die Prädilektionsstelle der Erkrankung zu sein scheint, die Herde in Stecknadelkopf- bis Hirsekorngröße auf, und sogar weit dickere Knoten von Hanfkorn-, Linsen- oder nahezu Erbsengröße bilden durchaus keine Seltenheit. Die Zahl der Knötchen ist außerordentlich variabel. Bald sind nur einige wenige Herde von gleicher oder auch ganz verschiedener Größe vorhanden, bald treten zahlreiche große Knoten, umgeben von mehreren kleineren, auf, bald ist die ganze Milz dicht besät und durchsetzt von meist miliaren Pseudotuberkeln.

Die allerkleinsten Knötchen erscheinen, soweit sie makroskopisch überhaupt noch eben erkennbar sind, auch hier wie bei E b e r t h als winzige „graue, punktförmige, leicht prominierende Einlagerungen“ im Innern und an der Oberfläche des Organs. Stetig wachsend, treten sie nach und nach markanter aus dem für gewöhnlich dunkelrotbraun verfärbten Gewebe hervor. Je mehr die Knötchen an Umfang und Dicke zunehmen, desto heller wird ihr Farbenton und desto stärker wird ihre Prominenz, so daß die Milz dann schließlich eigentümlich buntfarbig und grobhöckerig aussieht.

Für die Konsistenz der Milzherde gilt das gleiche wie für die großen Leberknoten E b e r t h s. Auch hier handelt es sich um „scharf umschriebene, mit einem flüssigen, schleimigen, graugelben Inhalt gefüllte Höhlen“, die ganz „den Eindruck kleiner Abszesse“ machen; allerdings erscheint der Inhalt im allgemeinen nicht gerade dünnflüssig-schleimig, sondern vielmehr als zähe, bröckelige, mit reichlichen korpuskulären Gebilden durchsetzte Masse, die aber dabei eine deutliche Ähnlichkeit mit Abszessen verrät.

Ähnlich, nur meist weniger scharf ausgeprägt, ist bei Meerschweinchen das Bild in der Leber. Anscheinend wird dieses Organ bei dem genannten Tier erst sekundär befallen, und so kommen fast nur Fälle mit einer kleineren Zahl und einer geringeren Größe der Tuberkel zur Beobachtung. Auch hier bilden, wie bei E b e r t h , „die ältesten Herde hirse- oder hanfkorngroße, rundliche und un-

regelmäßige, käsige Einlagerungen". Wenn aber Eberth weiterhin mitteilt, daß diese Herde „häufig von einem Bindegewebssaum, der strahlige Fortsätze in die Umgebung sendet, eingefaßt werden", so bedarf dies im vorliegenden Falle doch einer erheblichen Einschränkung. Allerdings wurde bei einigen besonders weit vorgeschrittenen Knoten der Leber ebenso wie in anderen Organen eine bindegewebige Kapsel, die übrigens nur mikroskopisch mit Deutlichkeit erkennbar war, nachgewiesen. Auch ließ dieser Bindegewebssaum einzelne kleinere Zacken und Ausläufer erkennen, aber von eigentlichen strahligen Fortsätzen in die Umgebung war nichts vorhanden. Vielleicht aber läßt sich eine andere Erscheinung in ähnlichem Sinne deuten. Bei vereinzelten Meerschweinchen, bei fast sämtlichen weißen Mäusen und den wenigen beobachteten Kaninchen- und Taubenpseudotuberkulosen boten nämlich die Leberherde schon makroskopisch ein völlig andersartiges Bild. Es handelt sich dabei nicht um die sonstigen runden, prominenten Knötchen, sondern um unregelmäßig eckige Herde mit zackigen Rändern, die sich ungemein scharf von der Umgebung abheben, aber nicht über die Leberoberfläche vorspringen. Bei Betrachtung mit dem unbewaffneten Auge hat man hier entschieden den Eindruck, als ob diese Art von Knötchen mit ihrer außerordentlich deutlichen und unregelmäßig spitzzackigen Abgrenzung „von einem Bindegewebssaum, der strahlige Fortsätze in die Umgebung sendet, eingefaßt" seien. Das mikroskopische Bild läßt aber nichts von bindegewebiger Abkapselung erkennen, so daß sich hier der Bau der Herde mit der Eberthschen Beschreibung nicht völlig deckt, aber doch immerhin eine gewisse makroskopische Ähnlichkeit bietet.

Das in den Lungen beobachtete Krankheitsbild stimmt dagegen nahezu völlig mit der Ebertschen Schilderung überein. In der Mehrzahl der hierher gehörigen Fälle sind in der Tat „die gefundenen Veränderungen auf die unteren Lappen beschränkt und bestehen in meist submiliaren, graugelben, isolierten und aggregierten Knötchen und einer grauroten Hepatisation ihrer Umgebung". Das reichhaltige Material der experimentellen Pseudotuberkulosen beweist zwar, daß, wenn auch ungleich seltener, die mittleren

und oberen Lappen ebenfalls affiziert werden können, aber zweifellos sind doch die Unterlappen als Prädilektionsstellen anzusehen.

Die Größe der Lungenknötchen schwankt in weiten Grenzen: Meist sind sie wie bei Eberth submiliar, zuweilen aber beträchtlich dicker und umfangreicher. In einem Falle wurde sogar ein erbsengroßer Herd, von einer feinen Bindegewebskapsel umhüllt, im Oberlappen gefunden. Eine ganz konstante Erscheinung war die graurote Hepatisation der Knötchenumgebung auf mehr oder minder große Gebiete hin.

Von pseudotuberkulös erkrankten Lymphdrüsen und Darmwandungen wie bei Eberth hat sich im vorliegenden Falle nie etwas nachweisen lassen. Dagegen wurden in zwei Fällen gelblichweiße, käsige Knötchen in den Nieren, die unter den großen drüsigen Organen offenbar erst in letzter Linie befallen werden, gefunden. Es handelte sich dabei um runde, scharf umschriebene, prominente Einlagerungen in den stark vergrößerten und sonst kaum veränderten Nieren. Unregelmäßig eckige Herde mit zackigen Rändern, wie sie des öfteren in der Leber vorkommen, wurden nicht beobachtet; vielmehr boten die Nierenpseudotuberkel in bezug auf Größe, Konsistenz und Form eine große Ähnlichkeit mit denen der Milz. Die meisten der Knötchen waren submiliar bis hirsekorngroß, doch wurde auch ein einzelner Herd von Linsengröße gefunden, dessen Bildung also trotz der Seltenheit der Nierenaffektion doch schon sehr früh begonnen haben mußte. Hinsichtlich der Lokalisation der Knötchen scheint eine Vorliebe für die Gegend des oberen Pols zu bestehen.

Entsprechend der makroskopischen Ähnlichkeit der gefundenen Veränderungen stimmt auch der histologische Bau der Knötchen mit der von Eberth gegebenen Beschreibung im wesentlichen überein.

Bevor ich auf die Beschreibung dieser Verhältnisse eingehe, sei hier kurz die Herstellungstechnik der zur histologischen Untersuchung nötigen Schnitte vorausgeschickt. Die betreffenden affizierten Organstücke wurden teils in Sublimatalkohol, teils in Formalin fixiert und gehärtet. Im ersteren Falle verweilten die Präparate 24 Stunden in Sublimatalkohol (34 absol. Alkohol und 66 konzentr. wässerige Sublimatlösung) und darauf ebenso lange in einer braunroten Lösung von Jod in 70 proz. Alkohol, um dadurch

etwaige Quecksilberniederschläge sicher zu beseitigen. Während der nächsten Tage wurden die Präparate in Alkohol von steigender Konzentration nachgehärtet und zwar je 24 Stunden in 70 proz., 80 proz., 90 proz., 96 proz. und absolutem Alkohol. Es erfolgte dann das Einlegen in Alkoholxylol, reines Xylol, Xylolparaffin und endlich das Einbetten in Paraffin. Die andere Hälfte der zu untersuchenden Präparate wurde in 10 proz. Formalinlösung gehärtet, dann mit 96 proz. Alkohol und so fort in gleicher Weise wie die vorigen weiter behandelt. Es kamen also lediglich Paraffinschnitte zur Verwendung; ihre jedesmalige Dicke betrug 5 μ.

Beide Härtungsverfahren erwiesen sich bei der histologischen Untersuchung als gut geeignet. Die mit Formalin behandelten Präparate zeichneten sich auch hier durch eine auffallend schöne Konservierung der roten Blutkörperchen aus. Quecksilberniederschläge bei den in Sublimatalkohol gehärteten Schnitten fanden sich niemals.

Bezüglich der Färbetechnik erwähne ich kurz folgendes: Gut geeignet ist die von Pick-Jakobsohn angegebene Methode. bei der man die blauen Stäbchen leicht im mattroten Gewebe erkennen kann; ebenso die Färbung mit polychromem Methylenblau, welche die Bakterien weit dunkler als das hellblaue Organparenchym erscheinen läßt. Weniger gut eignen sich zur Differenzierung dagegen die Färbungen nach Löffler, May-Grünwald und Giemsa. Am besten geeignet sind m. E. zweifellos die Pappenheimsche und die Mannsche Methode.

Bei der ersteren werden die durch Xylolalkohol und durch Alkohol in fallender Konzentration hindurchgeschickten Schnitte 2 bis 3 Minuten lang mit Methylgrün-Pyronin gefärbt, mit Wasser abgespült und ohne Nachbehandlung mit irgendeiner Säure sofort entwässert und in Zedernöl untersucht. Bei der Mannschen Färbung verweilen die ebenso vorbehandelten Schnitte 30 Minuten in einer Lösung von 0,5 Eosin in 100,0 60 proz. Alkohol. Es folgen dann der Reihe nach Abspülen mit Wasser, Nachfärben mit Löfflers Methylenblau eine Minute lang, nochmaliges Abspülen, Trocknen mit Fließpapier, kürzeres Differenzieren in absolutem Alkohol und längeres Differenzieren in essigsaurem Alkohol (30,0 absol. Alk. + 1 Tropfen einer 50 proz. Essigsäure), bis der Schnitt sich zu einem zarten Blau aufgehellt hat. Schließlich werden die Schnitte in absolutem Alkohol abgespült, entwässert und eingebettet.

Hinsichtlich der histologischen Studien sehe ich wegen des großen Umfanges, den diese Arbeit ohnhin schon genommen hat, von einer genau eingehenden Schilderung der Knötchenentwicklung in ihren einzelnen Stadien ab und beschränke mich auf die Angabe dessen, was mir besonders wesentlich erscheint.

Die jüngsten Pseudotuberkel erscheinen wie bei Eberth als „Anhäufungen lymphatischer Elemente“, als „Infiltrate der Interstitien zwischen den Zellen, die mit Ausnahme einer geringen Kompression keine nennenswerte Störung erkennen lassen“. Es

handelt sich um dicht gedrängte Haufen von vorwiegend Lymphozyten und minder zahlreichen mononukleären und polymorphkernigen Leukozyten. Mit der sich dauernd steigernden Einwanderung dieser Zellgebilde, denen sich im weiteren Verlauf noch vereinzelte Epitheloidzellen zugesellen, nimmt die Kompression des Organgewebes mehr und mehr zu, und es entwickelt sich schließlich eine ausgesprochene Schrumpfung und Koagulationsnekrose, die im Knötchenzentrum beginnt und peripherwärts langsam fortschreitet. Gleichzeitig gehen im Bereiche der allmählich wachsenden Knötchen Blutgefäße und noch vorhandene Erythrozyten rasch zugrunde.

So kommt im mikroskopischen Präparat schon bei schwacher Vergrößerung ein ganz charakteristisches Bild zum Vorschein. Färbt man nämlich die Schnitte nach dem oben geschilderten Verfahren, wie es Mann für die Differenzierung der Negrischen Körperchen empfohlen hat, so erkennt man im gemischtfarbigen Gewebe deutlich die mattrot tingierten kranken Herde, die im Zentrum, wo die Nekrotisierung begonnen hat, heller, nach der Peripherie zu dagegen dunkler erscheinen. Das gesunde Organparenchym läßt überall leuchtend zinnoberrot gefärbte Erythrozyten erkennen, die bis dicht an die Pseudotuberkel hinreichen, in diesen selbst aber gänzlich fehlen, so daß eine auffallende Trennung zwischen den roten kranken und den buntfarbigen gesunden Gebieten besteht. Den Schwund der Blutgefäße erwähnt auch Eberth in seiner Arbeit, hebt aber das rasche Zugrundegehen der in den Knötchen zerstreut liegenden roten Blutkörperchen und die dadurch ermöglichte deutliche Abgrenzung der Herde nicht mit der Schärfe hervor, wie das im vorliegenden Falle nötig erscheint.

Im weiteren Verlauf der Knötchenentwicklung ergibt sich insofern eine Abweichung von der Beschreibung Eberths, als sich hier nicht wie bei ihm „eine Umwandlung der lymphatischen Herde in eine Art hyalinen, leichtfaserigen Bindegewebes“ hat feststellen lassen. Sobald die Nekrotisierung des Parenchymgewebes eben geringe Grade erreicht hat, werden sofort auch die eingewanderten lymphatischen und leukozytären Elemente von diesem Prozesse mitbefallen, ohne daß es dabei zu einer fibrinösen Um-

wandlung kommt. Es liegen jetzt in den mittleren Partien der Herde „eine Menge feiner, stark tingibler Körnchen und Klümpchen, Zerfallsprodukte der lymphoiden Zellen", wie auch E b e r t h als weitere Folgeerscheinung schildert. Je mehr die Knötchen an Größe zunehmen, desto stärker wird in ihnen die Detritusbildung. Die Lympho- und Leukozyten suchen sich dabei gewissermaßen peripherwärts zurückzuziehen, und so entsteht ein dichter Zellwall rings um das zugrundegegangene Knötcheninnere. Bei allen gefärbten Präparaten tritt dieser Wall deutlich hervor, namentlich aber bei den von P a p p e n h e i m und M a n n angegebenen Tingierungsverfahren. Da die M a n n sche Methode durch die schöne Färbung der Erythrozyten noch den Vorzug einer weiteren Differenzierung zwischen gesunden und pseudotuberkulösen Teilen bietet, so entsteht gerade bei ihr eine ungemein scharfe Abgrenzung und ein wirklich recht übersichtliches Bild. Über den gleichen mikroskopischen Befund in Leberpseudotuberkeln berichten F r ä n k e l und M u c h[20]) in ihrer erst in der neueren Zeit erschienenen Arbeit „Über experimentelle Cholezystitis". „Man kann sich", so schreiben diese beiden Autoren, „in tingierten Schnitten davon überzeugen, daß es zu direkter Gewebsnekrose mit teilweise zentraler Erweichung gekommen ist, und daß sich in der Umgebung dieser Herde ein dichter Wall von Leukozyten findet."

Auf ein charakteristisches Kennzeichen der echten Tuberkulose, das nach E b e r t h bei der Pseudotuberkulose stets vermißt wird, muß noch besonders eingegangen werden. Es sind dies die Riesenzellen, die E b e r t h weder bei seinem ersten Pseudotuberkulosetier noch bei einem später veröffentlichten (Virchow-Archiv Bd. 103) Fall eines Kaninchens hat nachweisen können. „Riesenzellen wurden in keinem Knötchen gefunden", betont er hier ausdrücklich. Nur in einigen Leberknoten beobachtete er ähnliche Zellbildungen, die jedoch „entweder Durchschnitten oder Fragmenten von Gallengängen entsprechen, deren Elemente unter dem Druck des indurierenden Gewebes zu diesen riesenzellenartigen Gebilden zusammengeschmolzen sind". Während also E b e r t h keine eigentlichen Riesenzellen fand, wiesen spätere

Forscher, als erster im Jahre 1893 Apostolopoulos[29]) aus der Baumgartenschen Schule, das „konstante und häufige Vorkommen typischer, Langhansscher Riesenzellen in den Pseudotuberkelknötchen der Leber und Milz" nach. Auch im vorliegenden Falle wurden solche Riesenzellen gefunden, allerdings derart spärlich und vereinzelt, daß sie keinesfalls zu den charakteristischen Bestandteilen der durch Paratyphusbazillen erzeugten Pseudotuberkel gezählt werden können. Immerhin aber fiele mit dem Vorhandensein von Riesenzellen ein schon von Eberth hervorgehobenes Unterscheidungsmerkmal der tuberkelähnlichen Knötchen von den echten Tuberkeln fort.

Was nun die Mikroorganismen anbetrifft, auf deren Wirkung die Knötchenbildung zurückzuführen ist, so handelt es sich bei Eberth um feine Mikrokokken. Diese lagen seiner Beschreibung nach in unregelmäßigen, größeren oder kleineren Haufen zusammen im Inneren der Herde. In gleicher Weise sind im vorliegenden Falle die Erreger, obwohl es sich hier um eine ganz andere Art handelt, zu dichten Haufen in den Herden zusammengelagert. Schon bei schwacher Vergrößerung lassen sich diese ohne weiteres erkennen. Bei der Mannschen Färbung erscheinen sie als tiefblaue Stellen im hellrottingierten Knötchen, bei der Pappenheimschen Methode leuchtend rot im blauen Herde. Gerade die letztere Färbung mit ihrem starken Farbenkontrast zwischen Bakterien und Organgewebe gibt außerordentlich instruktive Bilder und ist, zumal da sie so rasch und bequem auszuführen ist, am meisten für derartige Pseudotuberkulosepräparate zu empfehlen.

Die Zahl der zu derartigen Haufen zusammengelagerten Bakterien ist des öfteren enorm groß. Aber auch einzeln liegende Stäbchen kommen vor, speziell in der näheren Umgebung der genannten Bazillenhaufen. Bei hochgradiger zentraler Herdnekrose sind sie aus diesen Partien verschwunden und nur noch im Lympho- und Leukozytenwall vorhanden, aber auch wieder in dichten Ballen zusammengelagert. Häufig sieht man auch einzelne Stäbchen im Innern von Phagozyten liegen.

Wenn nun Eberth eine besondere Gruppe von Leberknötchen aufstellt, die „unabhängig von irgendwelcher Invasion

von Organismen sich entwickelten", so muß dies für die hier beobachteten Pseudotuberkulosefälle entschieden negiert werden. Stets wurden die kleinen Erreger in den Knötchen nachgewiesen, sogar, wenn auch in entsprechend geringerer Anzahl, in den erst eben beginnenden „Anhäufungen lymphatischer Elemente". Von einem Vorkommen der Mikroorganismen im gesunden Gewebe erwähnt Eberth nichts. Auch im vorliegenden Falle finden sie sich hier nur recht selten und ganz vereinzelt. Beispielsweise sind sie wiederholt innerhalb von Nierenglomerulis gesehen worden. Im übrigen aber rufen die Bakterien eben da, wo sie zu mehreren auftreten, auch sofort neue Knötchen hervor.

Daß im Gegensatz zu den Eberthschen Herden nur die ganz großen Tuberkel, bei denen die Nekrotisierung schon weit vorgeschritten ist, mit einer bindegewebigen Kapsel umgeben sind, ist schon weiter oben erwähnt worden. Dieser anfänglich feine Bindegewebssaum, der sich in allen vier Organen, Milz, Leber, Lunge und Niere, hat nachweisen lassen, wird mit zunehmendem Alter des Herdes nach und nach dicker und derber. Sehr schön läßt sich dies mit der Anilinblau-Säurefuchsin-Goldorangemethode sichtbar machen, wobei die Bindegewebsfasern leuchtend blau gefärbt sind. (Die Schnitte sind hierbei in Zenkerscher Lösung vorbehandelt.)

Was die Lagerung der Pseudotuberkel in den einzelnen Organen betrifft, so sind sie „regellos über alle Teile des Parenchyms verstreut", wie auch Apostolopoulos hervorhebt. Irgendeine bestimmte Beziehung zu Blut- oder Lymphgefäßen, Gallengängen der Leber, Bronchiolen der Lunge oder Harnkanälchen der Niere hat sich nicht feststellen lassen, obwohl schon im makroskopischen Bild gewisse Prädilektionsstellen, wie unterer Lungenlappen und oberer Nierenpol, nicht zu verkennen sind.

Der beschriebene histologische Tuberkelaufbau ist in allen Organen der gleiche. Lediglich eine Gruppe von Leberaffektionen bildet hiervon eine Ausnahme. Es sind dies jene unregelmäßig zackig gerandeten, nicht prominierenden Leberherde, deren besonders häufiges Vorkommen bei Mäusen schon oben erwähnt wurde. Auch diese Pseudotuberkel sind von der Umgebung scharf abgegrenzt und im wesentlichen ähnlich gebaut, erleiden aber an-

scheinend eine nur unwesentliche Nekrotisierung im Zentrum. Selbst die größten und offenbar auch ältesten derartigen Herde zeigen, trotz der auch hier eingelagerten dicken Bakterienhaufen, nichts von Zerfall oder gar von Detritusbildung. Lediglich eine geringe Abnahme des Tinktionsvermögens macht sich geltend und beweist, daß eine gewisse Zellschädigung infolge der Bakterienwirkung doch eingetreten ist. Bis zum Schwund der roten Blutkörperchen aber ist es nicht gekommen, und so findet man in diesen Herden relativ reichliche Erythrozyten, die sich durch geringere Färbbarkeit von den anderen unterscheiden. Die Zahl der eingewanderten Lympho- und Leukozyten ist weit geringer als die bei den sonstigen Knötchen, und die stets so ausgesprochene wallartige Anhäufung dieser Zellgebilde ist hier kaum angedeutet.

Die in den Lungen vorgefundenen Knötchen stimmen mit der Beschreibung Eberths völlig überein. „Sie erwiesen sich", so berichtet er, „bei mikroskopischer Untersuchung als zellenreiche, etwas trockene, alveolitische, aus gequollenen Epithelien, einfachen Rundzellen und Eiterkörpern bestehende Herde, neben denen aber eine hauptsächlich durch Granulationszellen erzeugte Infiltration des interstitiellen Gewebes sich fand". Die Nachbargebiete dieser Lungenpseudotuberkel sind mit abgeschilferten und teilweise nekrotischen Alveolarepithelien, reichlichen Leukozyten und Erythrozyten derartig durchsetzt, daß die Partien völlig luftleer sind und als massives Organstück, ähnlich wie Milz oder Leber, erscheinen.

So gleichen denn in der Tat die beobachteten Organveränderungen makroskopisch und mikroskopisch dem von Eberth beschriebenen und als Pseudotuberkulose bezeichneten Krankheitsbild. Die wenigen Abweichungen vom Ebertheschen Typus sind zumeist im Laufe der Jahre bei weiteren Fällen spontan entstandener und experimentell erzeugter Pseudotuberkulose bereits von anderen Autoren als solche gefunden und veröffentlicht worden.

Gegenüber der echten Tuberkulose besteht aber, wie schon Eberth feststellte, durchaus kein absolut sicherer Unterschied. Die für Tuberkulose angeblich so charakteristischen Langhansschen Riesenzellen haben sich ebenfalls in den tuberkel-

ähnlichen Knötchen nachweisen lassen, so auch, wenngleich recht spärlich, im vorliegenden Falle. Die relativ beste Unterscheidung ermöglicht noch die zentrale Herdnekrose, die bei der Pseudotuberkulose aus grauweißlichen, zertrümmerten und zerbröckelten Massen im Gegensatz zu den gelblichen homogenen, verkästen Schollen der spezifischen Tuberkulose besteht. Immerhin, so sagt auch Apostolopoulos, „scheint auch hinsichtlich des Punktes Verkäsung kein durchgreifender differentialdiagnostischer Unterschied zwischen den echten und den Pseudotuberkeln konstruiert werden zu können. Ausschlaggebend für die Differentialdiagnose wird immer nur der Nachweis einer im morphologischen, tinktoriellen und kulturellen Verhalten scharf unterschiedenen Bazillenart sein müssen".

III. Zusammenfassung.

1. Aus dem Herzblut und den Organherden eines an Pseudotuberkulose eingegangenen Meerschweinchens wurde ein Bakterium gewonnen, das sich bei morphologischer, kultureller und serologischer Untersuchung als Paratyphus B-Bazillus identifizieren ließ. Gegenüber den aus menschlichen Erkrankungsfällen gezüchteten Paraty B-Stämmen bot dieser Mikroorganismus jedoch einige Abweichungen, so daß er als eine an Meerschweinchen angepaßte Varietät des Bacillus Paratyphi B aufzufassen ist.

2. Mit diesem Pseudotuberkulosebazillus gelang es, durch subkutane und intraperitoneale Injektionen Meerschweinchen zu infizieren. Von 35 Versuchstieren zeigten 17 pseudotuberkulöse Knötchen, und zwar 16 solche in der Milz, 13 in der Leber, 5 in der Lunge und 2 in der Niere. Als Prädilektionsstelle der Herde erwies sich die Milz. Dasselbe Krankheitsbild ließ sich durch Verfütterung von Pseudotuberkulosebazillen bei acht von elf Meerschweinchen erzeugen, siebenmal in der Milz, fünfmal in der Leber und zweimal in der Lunge. Hierbei verliefen sämtliche Erkrankungen im Gegensatz zu den wenigen bisher veröffentlichten Fällen tödlich.

3. Außer bei Meerschweinchen konnten bei weißen Mäusen durch subkutane und intraperitoneale Injektion, bei Kaninchen

durch subkutane und bei Tauben durch intramuskuläre Verimpfung pseudotuberkulöse Erkrankungen von Leber und Milz experimentell erzeugt werden. Bei diesen Tieren waren die Leberherde fast durchweg die primären.

4. Bei Versuchen einer Toxingewinnung wurde ein steriles Bouillonkulturensubstrat von Pseudotuberkulosebazillen hergestellt, das Meerschweinchen und Mäuse in längstens 48 Stunden zu töten vermochte; jedoch waren die dazu nötigen Quantitäten weit größer, als es bei echten Toxinen der Fall ist. Ferner wurden durch langdauerndes Schütteln von Agarkulturen in wenig Kochsalzlösung, Chloroformzusatz und Zentrifugieren giftige Substanzen gewonnen, die schon in geringen Mengen eine rapid tödliche Wirkung auf die damit behandelten Tiere entfalteten. — Versuche zum Nachweis eines Paratypho-Lysins fielen negativ aus.

5. Ein bakteriolytisch wirkendes Serum ließ sich mit dem Pseudotuberkulosebazillus nicht erzeugen. Das von Kaninchen durch monatelange Behandlung mit steigenden Bakteriendosen erhaltene Serum besaß lediglich eine geringe agglutinatorische Kraft.

6. Die histologischen Studien ergaben, daß der bei dem ersten spontan eingegangenen Meerschweinchen beobachtete Sektionsbefund sowie die später experimentell erzeugten Erkrankungen als Pseudotuberkulose in dem von Eberth angegebenen Sinne aufzufassen sind. Gegenüber der echten Tuberkulose besteht kein prinzipieller Unterschied, abgesehen von der Verschiedenheit der Erreger. Als beste Differenzierungsmethode von Bazillen, krankem und gesundem Gewebe erwies sich die von Pappenheim angegebene Methylgrün-Pyroninfärbung, fast ebenso günstig die besonders schöne Übersichtsbilder liefernde Mannsche Färbung.

Zum Schlusse meiner Arbeit sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer und Chef

Herrn Professor Dr. Bonhoff

für die gütige Überweisung des Themas, die Überlassung des Materials und seinen mir in liebenswürdiger Weise erteilten Rat meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Malassez et Vignal, Archives de Physiologie normale et pathologique, 1883.
2. Eberth, »Zwei Mykosen des Meerschweinchens«, Virchow-Archiv, Bd. 100.
3. Manfredi, »Über einen neuen Mikrokokkus als pathogenes Agens bei infektiösen Tumoren. Seine Beziehungen zur Pneumonie«, Fortschritte der Medizin 1886, Nr. 22.
4. Baumgarten, Jahresbericht über pathogene Mikrokokken 1887, Bd. 3, Anm. 139 zu »Kokken der Tuberculose zoogléique«.
5. Malassez et Vignal, Archives de Physiologie normale et pathologique 1884.
6. Eberth, »Der Bazillus der Pseudotuberkulose des Kaninchens«, Virchow-Archiv, Bd. 103.
7. Kutscher, »Ein Beitrag zur Kenntnis der bazillären Pseudotuberkulose der Nagetiere«, Ztschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 18, 1894, Heft 2.
8. Preisz H., »Über einen Fall von Pseudotuberkulose beim Schafe und über Pseudotuberkulose im allgemeinen«, Veterinarius 1891, Nr. 9.
9. Preisz H., »Recherches comparatives sur les pseudotuberculoses bacillaires et une nouvelle espèce de pseudotuberkulose«, Annales de l'Institut Pasteur 1894.
10. Pfeiffer A., »Über die bazilläre Pseudotuberkulose bei Nagetieren«, Leipzig, Verlag von Georg Thieme, 1889.
11. Van Ermengen, zitiert nach Kolle u. Wassermann, Handbuch der path. Mikroorg. 1903, Bd. II »Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftung«.
12. Durham, zitiert nach Uhlenhuth, v. Leuthold-Gedenkschrift, Berlin 1906.
13. Klein E., »Ein Beitrag zur Kenntnis der Verbreitung des Bacillus pseudotuberkulosis«, Zentr.-Bl. für Bakt., Abt. I, Bd. 26.
14. Klein E., »Über die Verbreitung des Bacillus enteritidis Gärtner in der Kuhmilch«, Zentr.-Bl. f. Bakt., Abt. I, Orig.-Bd. 38.
15. Löffler, »Diskussionsbemerkungen auf der 2. Tagung des fr. Vereins f. Mikrobiol.«, Zentr.-Bl. f. Bakt., Abt. I, Ref.-Bd. 42, Beiheft.
16. Neisser M., »Bericht über die erste Tagung des fr. Vereins f. Mikrobiologie«, Zentr.-Bl. f. Bakt., Abt. I, Ref.-Bd. 38.
17. Eckersdorff, »Kasuistische Beiträge zum Vorkommen von Bazillen der Paratyphus (Hog-Cholera)-Gruppe«, Arbeiten a. d. Inst. f. exp. Ther., Frankfurt a. M. 1908, Heft 4.

18. Dieterlen, »Über Pseudotuberkulose bei Meerschweinchen, verursacht durch den Bac. Paratyphi B«, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 30, Heft 2.
19. Bofinger, »Spontane Paratyphus-Infektion beim Meerschweinchen«, Deutsche Med. Wochenschr. 1911, Nr. 23.
20. Fränkel und Much, »Über experimentelle Cholecystitis, zugleich ein Beitrag zur Pathogenität des Bact. Paratyphi B.«, Ztschr. f. Hyg. 1911, Bd. 69, Heft 2.
21. Bugge, zitiert nach Uhlenhuth und Hübener, Med. Kl. 1908, Nr. 48.
22. Bonhoff, »Über die Identität des Löfflerschen Mäusetyphusbazillus mit dem Paratyphusbaz. des Typus B.«, Arch. f. Hyg. Bd. 50, 1904.
23. Vagedes, »Paratyphusbazillen bei einer Mehlspeisenvergiftung«, Klin. Jahrbuch 1905, Bd. 14, Heft 5.
24. Kutscher, »Paratyphus«, im Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle und Wassermann, Ergänzungsbd., 2. Heft.
25. Rolly, »Über eine Massenvergiftungsepidemie mit Bohnengemüse«, Münchener Med. Wochenschr. 1906, Nr. 37.
26. Uhlenhuth, v. Leuthold-Gedenkschrift, Berlin 1906.
27. Kraus und v. Stenitzer, »Über Paratyphusgifte und deren Neutralisation mit Typhusantitoxin«, Wiener Klin. Wochenschr. 1907, Nr. 25.
28. Yamanouchi, »Toxicité du filtrat des cultures en bouillon des bacilles typhiques et paratyphiques«, Comptes rendus de la Soc. d. Biol. T. 66, Nr. 23.
29. Apostolopoulos, »Zur Histologie der Pseudotuberkulose«, Arbeiten auf dem Gebiete der Pathologie, Anatomie und Bakteriologie von Baumgarten.

Lebenslauf.

Am 10. März 1888 wurde ich, Eugen Georg Wilhelm Kirch, katholischer Konfession, zu Siegen in Westfalen als Sohn des Kaufmanns Philipp Kirch geboren. Zuerst besuchte ich die Elementarschule, darauf das Realgymnasium meiner Vaterstadt, wo ich zu Ostern 1907 das Zeugnis der Reife erhielt. Ich bezog zum Studium der Medizin die Universität Marburg a. d. L. und bestand hier am 26. Juli 1909 die ärztliche Vorprüfung. Im folgenden Semester genügte ich meiner Dienstpflicht mit der Waffe in Würzburg, verbrachte das Sommersemester 1910 in München und kehrte im Winter 1910/11 nach Marburg zurück. Dort beendete ich am 30. April 1912 das Staatsexamen. Während der ersten 6 Monate meines praktischen Jahres war ich Assistent am Hygienischen Institut zu Marburg bei Herrn Prof. Dr. Bonhoff und bin seitdem an der inneren Abteilung des Städtischen Clemens-Hospitals zu Münster i. Westf. bei Herrn Prof. Dr. Arneth tätig.

Meine akademischen Lehrer waren:

In Marburg:

Bach, Beneke, Bonhoff, Bruns, Disse, Friedrich, Fries, Gasser, Gürber, Hildebrand, Hohmeyer, Hübner, Jahrmärker, König, Korschelt, Krauß, Kutscher, Lohmann, Mannkoppf, Matthes, A. Meyer, E. Müller, Ostmann, Richarz, Rieländer, Schenck, M. B. Schmidt, Schöne, Tuczek, Zangemeister, Zincke, Zumstein.

In Würzburg:

Borst, Helferich.

In München:

v. Bauer, Borst, Döderlein, Gebele, Grashey, Herzog, Hörmann, Klausner, Kopp, Neubauer, Rößle, Seitz.

Allen Herren sei an dieser Stelle mein bester Dank ausgesprochen.